

ANA PAULA SANTIN

ESTUDO DA SECAGEM E DA INATIVAÇÃO DE LEVEDURAS
Saccharomyces cerevisiae

Dissertação apresentada como requisito parcial à
obtenção do título de Mestre em Engenharia
Química.

Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química
Departamento de Engenharia Química,
Universidade Federal de Santa Catarina.

Orientador: Prof. Marinho Bastos Quadri
Co-orientador: Prof^a. Mara G. Novy Quadri

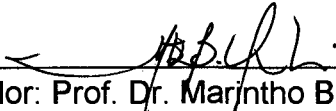
FLORIANÓPOLIS
1996

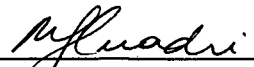
ANA PAULA SANTIN

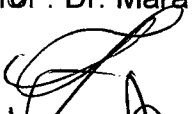
ESTUDO DA SECAGEM E DA INATIVAÇÃO DE LEVEDURAS
Saccharomyces cerevisiae

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em
Engenharia Química no Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química da
Universidade Federal de Santa Catarina.

Banca Examinadora:


Orientador: Prof. Dr. Marinho Bastos Quadri


Co-orientador: Prof.^a Dr. Mara G. Novy Quadri


Prof. Dr. Francisco Maugeri Filho, UNICAMP


Prof. Dr. Arioaldo Bolzan, UFSC

Agosto, 1996

*Ao Carlos André, minha alma gêmea, e
à minha família por me apoiar em todos os
momentos da minha vida.*

AGRADECIMENTOS

Ao professor orientador Marinho Bastos Quadri pela orientação e minuciosa correção deste trabalho.

À professora co-orientadora Mara G. Novy Quadri pela orientação, dedicação e preocupação demonstrada durante a realização deste trabalho.

Ao Laboratório de Química de Alimentos, na CAL, em especial à prof^a. Eliane Moretto e ao Luciano, técnico exemplar, pela oportunidade de desenvolver parte do trabalho experimental neste local, meus agradecimentos.

Ao Laboratório de Bioquímica, em especial à Denise pela atenciosa colaboração, e à Ciumara e à Débora pelo coleguismo, meu muito obrigada.

À Salete pela carinhosa convivência, e ao Edevilson, sempre muito atencioso.

Ao Dariva e à Sílvia pela oportunidade de uso do programa Statistica.

Ao prof. Adelamar pela gentil colaboração.

Aos colegas do Departamento de Engenharia Química e de Alimentos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

À CAPES pelo suporte financeiro através de bolsa de estudo.

À Fapeu pelo suporte financeiro na aquisição de material necessário à realização deste trabalho.

SUMÁRIO

[illegible]

III.2.2 Termolisação	53
III.2.3 Determinação Das Condições De Operação ..	54
III.2.3.1 Velocidade do ar de secagem	54
III.2.3.2 Umidade relativa (UR %) do ar de secagem	54
III.2.4 Cinética de Secagem	55
III.3 OBTENÇÃO DAS ISOTERMAS DE SORÇÃO	56
III.4 MÉTODOS DE ANÁLISE	58
III.4.1 Conteúdo de umidade	58
III.4.2 Atividade Fermentativa	59
III.4.2.1 Análise do poder fermentativo	59
III.4.2.2 Determinação de células viáveis:	
Contagem de Colônias	61
III.4.3 Proteínas Totais	62
III.4.3.1 Dosagem de nitrogênio total e proteína	
bruta	62
III.4.3.2 Dosagem de nitrogênio protéico e não-	
protéico	65
III.4.4 Carboidratos Totais Disponíveis	67
III.4.5 Gordura Bruta	68
IV RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
IV.1 Características da Levedura	70
IV.2 Análise das Curvas de Secagem	71
IV.3 Análise da Atividade Fermentativa	86
IV.4 Valor Nutricional das Leveduras Secas	92
IV.5 Levantamento das Isotermas de Equilíbrio	98

V CONCLUSÕES	112
APÊNDICE I	116
APÊNDICE II	121
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	128

LISTA DE FIGURAS

Figura II.1 - Vista em corte de uma célula de levedura	7
Figura II.2a - Reprodução de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> em meio de cultura de três dias	10
Figura II.2b - Célula com múltiplas germinações	10
Figura II.3 - Processos de produção de leveduras de panificação e levedura alimentar	14
Figura II.4 - Etapas clássicas de um processo de produção de POU	15
Figura II.5 - As propriedades do material úmido e seco no processo de secagem	19
Figura II.6 - Curva de secagem	21
Figura II.7 - Cinética de secagem	22
Figura II.8 - Cinética de secagem para vários materiais	25
Figura II.9 - Cinética de secagem para vários tipos de problemas na secagem	26
Figura II.10 - Curvas de temperatura de materiais úmidos para a superfície e centro do material	27
Figura II.11 - Dependência da taxa de deterioração com a atividade de água	31
Figura II.12 - Isotermas de sorção apresentando o fenômeno de histerese	35
Figura II.13 - Isotermas de dessorção para biomassa de leve- dura de panificação à diferentes temperaturas	36
Figura II.14 - Representação básica do secador spray	40

Figura II.15 - Secadores tambor: (a) duplo-secador com centro de alimentação; (b) secadores idênticos com depressão de alimentação; (c) secadores idênticos com alimentação borrifada	43
Figura II.16 - Secador de leite fluidizado	46
Figura III.1 - Foto do aparelho de medida do poder fermentativo residual	60
Figura IV.1 - Curvas da variação mássica em função do tempo de secagem	73
Figura IV.2 - Curvas de secagem de leveduras termolisadas e não termolisadas à 55°C	76
Figura IV.3 - Curvas de secagem de leveduras termolisadas e não termolisadas, à 65°C	76
Figura IV.4 - Curvas de secagem de leveduras termolisadas e não termolisadas, à 75°C	77
Figura IV.5 - Curvas de secagem de leveduras termolisadas e não termolisadas, à 90°C	77
Figura IV.6 - Curvas de secagem de leveduras termolisadas e não termolisadas, à 120°C	78
Figura IV.7 - Curvas de velocidade de secagem em função do tempo, à 55°C	80
Figura IV.8 - Curvas da velocidade de secagem em função da razão mássica, à 55°C	80
Figura IV.9 - Curvas de velocidade de secagem em função do tempo de secagem, à 65°C	81

Figura IV.10 - Curvas da velocidade de secagem em função da razão mássica, à 65°C	81
Figura IV.11 - Curvas da velocidade de secagem em função do tempo de secagem, à 75°C	82
Figura IV.12 - Curvas da velocidade de secagem em função da razão mássica, à 75°C	82
Figura IV.13 - Curvas da velocidade de secagem em função do tempo de secagem, à 90°C	83
Figura IV.14 - Curvas da velocidade de secagem em função da razão mássica, à 90°C	83
Figura IV.15 - Curvas de velocidade de secagem em função do tempo de secagem, à 120°C	84
Figura IV.16 - Curvas da velocidade de secagem em função da razão mássica, à 120°C	84
Figura IV.17 - Evoluções da atividade fermentativa (relacionada à produção de gás carbônico) e da velocidade de secagem em amostra de leveduras não termolisadas secas à 55°C	87
Figura IV.18 - Evoluções da atividade fermentativa e da velocidade de secagem em amostra de leveduras não termolisadas secas à 65°C	88
Figura IV.19 - Evoluções da atividade fermentativa e da velocidade de secagem em amostra de leveduras não termolisadas secas à 75°C	88

Figura IV.20 - Evoluções da atividade fermentativa e da velocidade de secagem em amostra de leveduras não termolisadas secas à 90°C	89
Figura IV.21 - Isoterma de adsorção à 25°C ajustada por GAB para levedura original comercial	102
Figura IV.22 - Isoterma de adsorção à 25°C ajustada por GAB para levedura seca à 55°C por 180 minutos ..	103
Figura IV.23 - Isoterma de adsorção à 25°C ajustada por GAB para levedura seca à 65°C por 180 minutos ..	103
Figura IV.24 - Isoterma de adsorção à 25°C ajustada por GAB para levedura seca à 75°C por 180 minutos ..	104
Figura IV.25 - Isoterma de adsorção à 25°C ajustada por GAB para levedura seca à 120°C por 180 minutos .	104
Figura IV.26 - Comparação entre isotermas de adsorção à 25°C ajustada por GAB para as temperaturas de 55°C, 65°C, 75°C e 120°C, excluindo o ponto correspondente à $a_w = 0,23$	107
Figura IV.27 - Isoterma de dessorção à 25°C ajustada pelo modelo de GAB para levedura original umidificada	109
Figura IV.28 - Comparação entre isoterma de adsorção para levedura original comercial e isoterma de dessorção para levedura original comercial umidificada, a 25°C	111

LISTA DE TABELAS

Tabela II.1 - Transformações nas propriedades do bio-produto durante a secagem	19
Tabela II.2 - Atividade de água mínima de crescimento	33
Tabela II.3 - Composição média em porcentagem de células microbianas em base seca	49
Tabela II.4 - Composição de aminoácidos(g/16 g N ₂ da levedura)	50
Tabela II.5 - Conteúdo de vitaminas e minerais de leveduras típicas	50
Tabela III.1 - Relação de sais utilizados e suas respectivas umidades relativas em função da temperatura .	57
Tabela IV.1 - Correspondência entre tempos de secagem para obtenção de razão mássica constante nas diferentes temperaturas de secagem	74
Tabela IV.2 - Umidades relativas do ar de secagem para as temperaturas de bulbo seco e de bulbo úmido ..	75
Tabela IV.3 - Razão mássica final para as amostras termolisadas e não termolisadas nas diferentes temperaturas de secagem	78
Tabela IV.4 - Comparação entre o volume de CO ₂ produzido pelas leveduras secas com o crescimento de células em placas	92
Tabela IV.5 - Análise da composição química da levedura original comercial	93

Tabela IV.6 - Valores de teor protéico para as amostras de leveduras secas	94
Tabela IV.7 - Composição de nitrogênio protéico e não-protéico nas amostras de leveduras secas inativadas	94
Tabela IV.8 - Composição de carboidratos totais e extrato etéreo, para as temperaturas extremas	98
Tabela IV.9 - Valores do teor de umidade de equilíbrio a cada a_w para as isotermas de adsorção à 25°C	100
Tabela IV.10 - Coeficientes da equação de GAB ajustados para as isotermas de adsorção de leveduras secas a diferentes temperaturas, levando em consideração a inserção e exclusão do ponto correspondente a $a_w = 0,23$	106
Tabela IV.11 - Conteúdo de umidade de equilíbrio correspondente à determinada atividade de água para isoterma de dessorção à 25°C	109
Tabela IV.12 - Coeficientes da equação de GAB para a isoterma de dessorção de levedura original umidificada	110

NOMENCLATURA

A	área de transferência de massa, m^2
A	massa da amostra, g
a_w	atividade de água
bu	bulbo úmido
C	constante
H_l	calor de condensação do vapor de água pura, cal/g mol
H_m	calor de sorção da primeira camada nos sítios primários, cal/g mol
H_n	calor de sorção das moléculas de água nas multicamadas, cal/g mol
ΔH_{BET}	variação do calor de sorção, cal/g mol
k	fator de correção das propriedades das moléculas da multicamada com respeito ao volume de líquido
m	massa, kg
m/m_i	razão mássica (massa final/massa inicial), g/g
N_T	Nitrogênio Total, gss %
N_{NP}	Nitrogênio Não Protéico, gss %
N_P	Nitrogênio Protéico, gss %
P_T	Proteína Total, gss %
P	pressão ambiente, mm Hg
P	pressão parcial de vapor d'água de um produto
P_0	pressão de vapor d'água pura a mesma temperatura T
R	constante universal dos gases, cal/(g mol)
R	taxa de secagem, 1/s
ss	sólido seco, g
T	temperatura K e °C
T_{bu}	temperatura de bulbo úmido, °C
T_{bs}	temperatura de bulbo seco, °C
t	tempo, s
UA	umidade absoluta do ar, g água/ g ar seco
UR	umidade relativa de equilíbrio
V	volume de CO ₂ desprendido, ml
V_{CO_2}	volume de CO ₂ calculado, ml CO ₂ / g ss
w_D	fluxo de difusão de massa na secagem kg/(m ² s)
X	conteúdo de umidade, g _{água} /g _{ss}
X_0	conteúdo de umidade inicial, g _{água} /g _{ss}
X_m	conteúdo de umidade da monocamada, g _{água} /g _{ss}
Y	umidade do vapor do gás principal, kg/kg
Y_s	umidade do gás na superfície da camada de líquido, kg/kg
α	coeficiente de ordem um
μ_w	potencial químico

RESUMO

A utilização de leveduras, em especial *Saccharomyces cerevisiae*, como fonte alimentícia cresceu nos últimos anos. Contrariamente à levedura destinada à indústria fermentativa, a levedura alimentar deve se apresentar biologicamente inativa, conservando seu alto teor protéico e vitamínico, de forma a poder ser aproveitada tanto para ração animal quanto para o consumo humano. A produção industrial de leveduras e seu uso como complemento alimentar, pode amenizar os problemas agropecuários devido ao clima e à sazonalidade de culturas. Se um método de conservação for acoplado à produção, é possível ainda propiciar um fornecimento equilibrado ao mercado consumidor através do controle de estoques. Neste contexto, a operação de secagem se torna particularmente atraente pois coloca a biomassa de leveduras sob uma forma física que facilita a estocagem, o transporte e a comercialização. Por outro lado, poucas informações existem sobre o comportamento de leveduras quando submetidas à ação do calor visando sua secagem e inativação simultâneas, bem como das consequências sobre o produto final. No presente trabalho, efetuou-se uma série de análises relativas ao processo de secagem de leveduras. Curvas de secagem experimentais foram conduzidas em estufa com circulação forçada de ar nas temperaturas de 55 °C, 65 °C, 75 °C, 90 °C e 120 °C. Estas curvas foram associadas à atividade fermentativa das leveduras, que foi avaliada sucessivas vezes durante o processo. Procurou-se também colocar em evidência o efeito da autólise, ou auto-solubilização, das células de levedura, fenômeno este provocado pela ação do calor ao ativar enzimas proteolíticas. O estudo estendeu-se ainda ao levantamento de isotermas de sorção necessárias à quantificação da higroscopicidade do material e à caracterização de seu comportamento frente a diferentes condições de secagem. Adicionalmente, buscou-se detectar alterações na composição e propriedades físico-químicas das leveduras (teor protéico, solubilidade em água, modificações estruturais, etc.). Observou-se que o processo de secagem e inativação simultânea de leveduras, quando conduzido a temperaturas elevadas (acima de 75°C) durante tempos não excessivamente longos, não chega a comprometer o valor nutritivo do produto, mas pode promover alterações indesejáveis no aspecto, odor e estrutura do mesmo, com diminuição da solubilidade e da capacidade de reidratação. Tais alterações podem inviabilizar comercialmente o produto. Considera-se que as informações coletadas ao longo deste estudo possam vir a auxiliar na definição de métodos e condutas devidamente adaptadas à produção industrial de leveduras alimentares, de modo a satisfazer às necessidades de inativação biológica, de textura adequada, e de conservação das propriedades nutritivas.

ABSTRACT

The yeast utilization, in special *Saccharomyces cerevisiae*, as food source has increased in the last years. In opposition at yeast for fermentative industry, the food yeast must be biologically inactive, conserving its high protein and vitamin contents, in order to be used both as animal feed and human food. The yeast industrial production and its use as supplement food could reduce agrarian and animal farming problems due to climate and crops seasonally. If a conservation method is put together with production activity, is possible to provide a balanced supplying at consumer market through inventory control. The drying process is particularly attractive as it puts the yeast biomass in a physical form which facilitates some handling as stockage, transport and trade. In the other way, there are few informations about yeast behavior when put under heat action for simultaneous drying and inactivation. It is not known the final consequences over the product. In this work, several analyses related at yeast drying process were carried-out. Experimental drying curves were conduced in air circulation dryer for five different temperatures: 55°C, 65°C, 75°C, 90°C and 120°C. This curves were related yeast fermentative activity, that were analyzed several times during the process. The effects of autolysis or self-solubilization on yeast cells caused by heat action for activity proteases enzymes were also observed. The experimental study also included sorption isotherm determinations which were needed to material higroscopic quantification and its behavior when under different drying conditions. Besides changes in the yeast composition and physical-chemical properties (such as: protein contents, water solubility, structural changes, etc.) were analyzed. During the drying process and yeast simultaneous inactivation, it was observed that for short periods under temperature higher than 75°C, nothing happens that could decrease the product nutritive value. However, it can promote undesirable changes in aspect, odour and structures of the product, decreasing so their solubility rehydration capacity. Under these conditions the process becomes unfeasible. A goal of this research work was to obtain information to help in methods definition and right procedures towards yeast food industrial production, satisfying so the biological inactivation texture condition and nutritive properties conservation.

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

As leveduras são conhecidas como "as plantas mais antigas cultivadas pelo homem", e são reconhecidas historicamente por sua capacidade fermentativa. Tradicionalmente, as leveduras são utilizadas pelas indústrias de alimentos principalmente na produção de etanol e de dióxido de carbono os quais são importantes às indústrias de cerveja, de vinho, de álcool e de fermentos.

O primeiro processo biotecnológico para a produção industrial de microrganismos úteis ao homem foi a de levedura de panificação, *Saccharomyces cerevisiae*, que por possuir qualidades nutritivas, passou também a ser produzida para utilização como alimento humano ou animal. Da mesma maneira, as leveduras obtidas em processos fermentativos, como os de cervejaria e os de produção de álcool de cereais e de melaço, começaram a ser reaproveitadas a partir do subproduto e comercializadas como alimento protéico e vitamínico.

Nas últimas décadas uma maior atenção tem sido dada à questão da alimentação no mundo, que apresenta problemas tanto quantitativos quanto qualitativos. A problemática da fome no

mundo é uma preocupação geral. O aumento da população não é acompanhado de um crescimento correspondente das fontes alimentícias, especialmente protéicas. Esta é a razão pela qual procura-se novas fontes de proteínas vegetais e animais, na agricultura, na pecuária e na piscicultura. Recentemente tem-se conseguido produzir, através de microrganismos, proteínas utilizáveis na alimentação humana ou animal, sendo esta uma das muitas possibilidades estudadas de produção de proteína unicelular pelo crescimento do microrganismo num meio fermentável (IMRIE, 1975).

O desenvolvimento de novas fontes de proteínas está se tornando uma necessidade absoluta e urgente, ajudando com isso a amenizar o problema da fome no Terceiro Mundo.

No que diz respeito à alimentação protéica, o aspecto qualitativo também é muito importante, principalmente porque as proteínas alimentícias devem fornecer, ao homem ou animal, os aminoácidos que este não pode sintetizar, chamados "indispensáveis" ou "essenciais", que são necessários para a formação de suas próprias proteínas (CHEFTEL et al, 1989).

A geração de proteína unicelular para consumo humano tem sido considerada como a maior via de produção de alimentos, a qual elimina as restrições sazonais e de variações climáticas que existem em muitas safras agrícolas. Já que a seleção de microrganismos pode ser baseada no valor nutricional e no conteúdo protéico, a produção em larga escala pode vir a se

constituir numa das soluções ao problema de deficiência alimentar existente hoje.

O objetivo dos numerosos processos desenvolvidos para a produção de organismos de crescimento rápido, capazes de utilizar substratos orgânicos, antes disponíveis como fonte de carbono e de energia, é de converter compostos nitrogenados inorgânicos em proteínas de alto valor nutritivo (TAEYMANS e LENGES, 1983).

A partir da idéia de produzir fontes alimentícias com alto teor de proteínas e vitaminas do complexo B, fazendo-se uso de leveduras, vem-se buscando substratos alternativos com o intuito de tornar fontes poluidoras em meios de fermentação. Este é o caso do aproveitamento de resíduos de agroindústrias, especialmente os de fecularias, grandes poluidores do meio-ambiente (como em Santa Catarina), os quais tornam-se fontes assimiláveis de carbono utilizáveis na produção desses microrganismos.

A proteína unicelular (levedura alimentar) obtida por via fermentativa, deve ser inativada biologicamente, conservando concomitantemente suas propriedades nutritivas para o aproveitamento em ração animal ou mesmo para consumo humano.

A operação de secagem transforma a biomassa composta de células microbianas em levedura seca ativa ou inativa e ainda coloca-a sob uma forma física atraente, facilitando a estocagem, o transporte e a comercialização.

A secagem de leveduras é aplicada na indústria há muitos anos, contudo pesquisas teóricas e experimentais para determinar as condições ótimas de processo ainda são necessárias, principalmente no que diz respeito à cinética de secagem de leveduras, as quais são escassas na literatura.

Portanto, este trabalho tem como objetivo o estudo da secagem de leveduras do tipo comercial, *Saccharomyces cerevisiae*, a fim de se obter sua inativação fermentativa, mantendo-se suas características físicas e químicas bem como sua qualidade nutricional para posterior aproveitamento em ração animal.

Efetuuou-se a secagem das leveduras em estufa com reciclo de ar, após umidificação da amostra a um conteúdo de umidade conhecido, por temperaturas e tempos determinados, obtendo-se suas curvas de secagem e cinética de secagem. Uma análise do poder fermentativo foi efetuada para testar sua inativação. A medida do teor protéico para quantificar o valor nutritivo da levedura seca foi efetuada após a secagem e inativação térmica para as diferentes temperaturas de secagem.

No Capítulo II deste trabalho é apresentado uma revisão bibliográfica, a qual apresenta o conceito de leveduras, o desenvolvimento matemático da secagem, os tipos de secadores usados em secagem de produtos de origem microbiológica e isotermas de sorção.

No Capítulo III é realizada uma descrição detalhada dos equipamentos e dos métodos analíticos empregados na realização dos experimentos.

O Capítulo IV apresenta os resultados obtidos na secagem do bio-produto, assim como sua inativação térmica e avaliação nutricional. Uma análise dos resultados é realizada procurando-se compará-los com dados de literatura.

O Capítulo V apresenta as conclusões finais e sugestões para próximos trabalhos.

CAPÍTULO II

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

II.1 DEFINIÇÃO DE LEVEDURAS

As leveduras são organismos pertencentes ao grupo dos fungos, as quais se apresentam predominantemente sob a forma unicelular, diferenciando-se dos fungos verdadeiros (ou mofos) que são organismos geralmente multicelulares. Elas exercem papel similar ao das bactérias, sendo tipicamente consumidores de matéria orgânica. Sua reprodução vegetativa se faz, geralmente, por gemulação (brotamento). Como células simples, as leveduras crescem e se reproduzem mais rapidamente do que os mofos. Também são mais eficientes na realização de alterações químicas, por causa de sua maior relação área/volume. São facilmente diferenciadas das bactérias em virtude de suas dimensões maiores e de suas propriedades morfológicas.

Seu tamanho varia de 2,5 a 10,5 μm de largura e de 4,5 a 21 μm de comprimento (REED e PEPPLER, 1973). Sua forma também é muito variável, indo desde elementos esféricos até células elípticas bastante alongadas, quase filamentosas. Suas células apresentam as características dos seres eucarióticos, possuindo

uma estrutura celular altamente organizada. Tem membrana citoplasmática lipoprotéica, cuja principal função é regular as trocas com o meio ambiente. Possuem, também, uma parede celular rígida, constituída principalmente de dois polissacarídeos: manana e glucana; além disso, contêm proteínas e lipídios. No citoplasma, encontram-se, além dos componentes usuais em solução, um ou mais vacúolos, delimitados por uma membrana (Figura II.1).

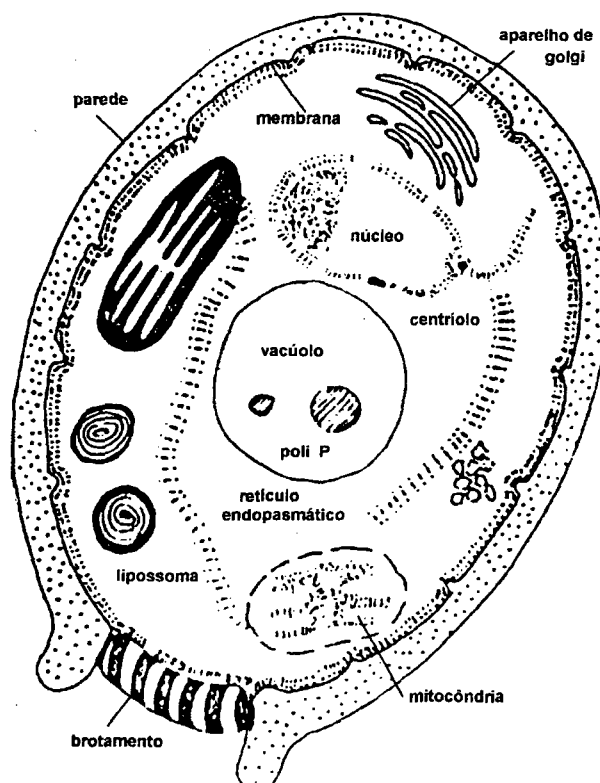


Figura II.1 - Vista em corte de uma célula de levedura
(DZIEZAK, 1987)

II.2 PRODUÇÃO DE LEVEDURAS

A fermentação é o processo mais importante dentro da biotecnologia. Sendo um processo complexo de transformações bioquímicas, depende de fatores microbiológicos, químicos, físicos e mecânicos.

Segundo KILHLBERG (1972), os microrganismos considerados na produção de proteína unicelular além das leveduras são microalgas, bactérias e fungos filamentosos. As vantagens gerais dos microrganismos sobre as plantas e animais como produtores de proteínas são:

1. Os microrganismos tem um tempo de geração muito curto, e fornecem um rápido aumento de massa celular. As bactérias e leveduras, sob as condições mais favoráveis, tem tempo de geração de 0,5 a 2 e de 1 a 3 horas, respectivamente, enquanto as algas e os fungos filamentosos podem dobrar sua massa de 2 a 6 e de 4 a 12 horas respectivamente.

2. Os microrganismos podem ser facilmente modificados geneticamente.

3. O conteúdo protéico em microrganismos é geralmente mais elevado do que o da maioria das outras fontes de proteína.

4. A produção de proteína de organismo unicelular pode ser baseada em uma grande variedade de substratos, inclusive resíduos industriais, o que torna viável sua produção em diferentes regiões, desde que se escolha ou se adapte adequadamente o substrato disponível ao microrganismo. Além do

mais, a utilização de resíduos industriais contribui para que se alivie o problema de poluição. Como é o caso de pesquisas de SALES (1987) e NINOW (1994).

5. A produção de proteína unicelular pode ser executada em cultura contínua, independente de condições climáticas, exigindo pequena disponibilidade de água e de espaço.

As células de leveduras podem ser propagadas pelo processo "fed-batch" ou contínuo. O processo fed-batch é o método principal de produção de leveduras de panificação, de algumas leveduras alimentares, e de biomassa para a extração de enzimas e para produção de autolisados (DZIEZAK, 1987).

O processo começa com a escolha da cepa específica de levedura. O crescimento ocorre a 30°C em pouco mais de 2 dias, durante o qual parâmetros como alimentação incremental, pH, temperatura e aeração são estritamente controlados. As Figuras II.2a e II.2b mostram a reprodução de *S. cerevisiae* em uma cultura de 3 dias e uma célula com múltiplas germinações, respectivamente.

As células de leveduras obtidas na fermentação constituem um colóide hidrofílico apresentando uma quantidade de água que varia de 70 a 98% (STRUMILLO e ADAMIEC, 1991). O processo de concentração deste colóide é frequentemente conduzido em um separador centrífugo, resultando em um creme de levedura de mais ou menos 18% de sólidos, o qual é posteriormente seco afim de se obter um produto final de vida útil mais prolongada.

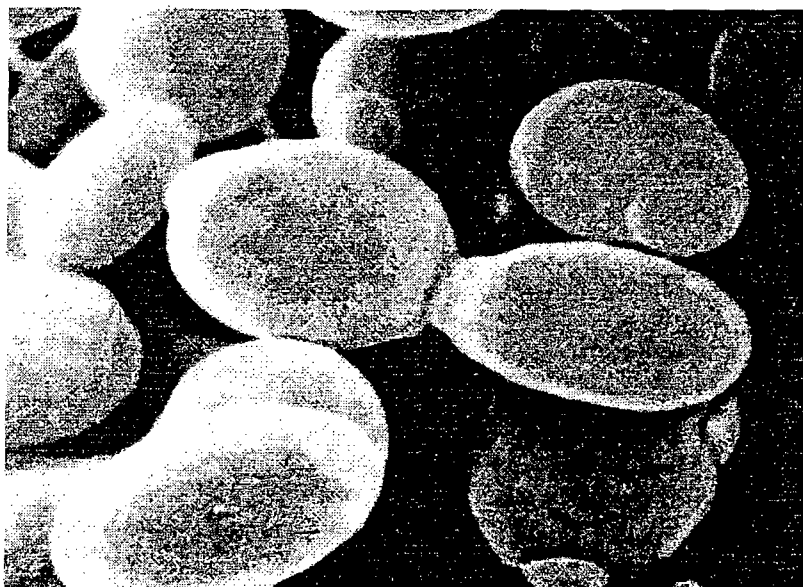


Figura II.2a - Reprodução de *Saccharomyces cerevisiae*
em meio de cultura de três dias.

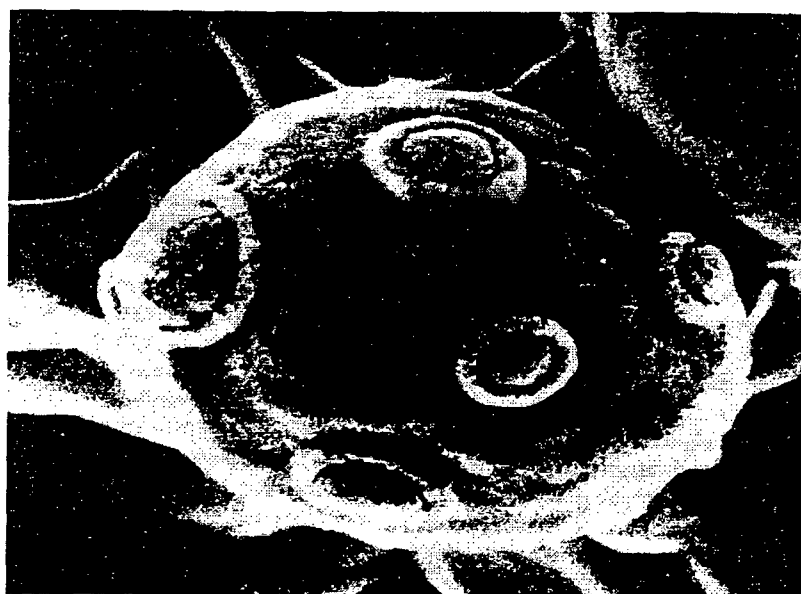


FIGURA II.2b - Célula com múltiplas germinações.

(DZIEZAK, 1987)

As leveduras são classificadas com base na sua atividade. Leveduras ativas são aquelas usadas para fermentação e como fonte de componente nutricional e "flavor". Já as leveduras inativas, como não tem capacidade de fermentação são usadas predominantemente como alimento nutricional e "flavor".

As leveduras ativas incluem levedura de panificação, de cervejaria, de destilaria e de vinho.

A levedura de panificação (*Saccharomyces cerevisiae*) está disponível em três formas: prensada, seca ativa e seca ativa instantânea, as quais diferem em sua atividade e estabilidade.

As leveduras inativas, usadas principalmente por suas propriedades nutricionais e promovedoras de sabor e aroma, incluem formas secas de levedura de padeiro, de levedura de cerveja e de leveduras que crescem aerobicamente em uma variedade de substratos, especificamente para uso na alimentação humana e animal.

As leveduras resultantes dos processos exclusivamente destinados à sua propagação são denominados correntemente leveduras primárias, enquanto que as leveduras obtidas como subprodutos de outras indústrias fermentativas são denominadas leveduras secundárias (FALANGHE, 1978). Neste último caso encontram-se as leveduras recuperadas de cervejaria e de destilarias que utilizam melaço ou cereais como substratos.

Dentre as leveduras de crescimento primário incluem-se, além da *Saccharomyces cerevisiae*, a *Candida utilis* e a *Kluyveromyces fragilis* e *lactis*.

As leveduras secas e leveduras de crescimento primário podem ser posteriormente processadas para produzir autolisados e extratos, enzimas e outros componentes bioquímicos.

O objetivo de numerosos processos desenvolvidos para a produção de organismos de crescimento rápido capazes de utilizar substratos orgânicos, antes disponíveis como fonte de carbono e de energia, é de converter os compostos nitrogenados inorgânicos em proteínas celulares de alto valor nutritivo (TAEYMANS e LENGES, 1983).

II.3 SECAGEM DE LEVEDURAS

A operação de secagem é de grande importância nos processos biotecnológicos, devido à alta sensibilidade dos produtos microbiológicos às condições ambientes. Portanto o processo de preservação deve ser ajustado individualmente, sob condições estritamente determinadas.

Conforme TAEYMANS e LENGES (1983) a secagem de uma biomassa composta de células microbianas é utilizada para:

- colocar a biomassa sob uma forma física atraente de maneira à facilitar a estocagem, o transporte e a comercialização;
- colocar a biomassa sob uma forma física particular com o objetivo de utilização como catalisador, por exemplo glicose-isomerase em leito fixo.

A secagem deve impedir a proliferação de microrganismos e a maior parte das reações enzimáticas e químicas de degradação. No caso da biomassa seca ativa, esta deve sobreviver a um período de estocagem em estado letárgico para ser posteriormente reativada por reidratação.

A operação de secagem aplicada aos processos biotecnológicos envolve:

- a obtenção de leveduras secas ativas que são produzidas industrialmente e aplicadas às indústrias de fermentação, como pode ser visto na Figura II.3;

- a produção de proteínas de organismos unicelulares (POU) onde estão incluídos além da levedura seca alimentar, as células secas de algas, de bactérias e de cogumelos, consideradas fontes de proteínas, destinadas à alimentação humana e animal. As etapas do processo de produção de POU estão representadas na Figura II.4;

- a produção de enzimas onde os microrganismos recuperados no fim da fermentação são filtrados ou centrifugados, efetuado um tratamento com agentes coagulantes ou floculantes e a enzima é então precipitada.

Os materiais secos são classificados de acordo com sua estrutura e tipo de água ligada. Nos materiais considerados e produtos biotecnológicos, a água nas células está na forma de umidade livre e de água de ligação com a superfície do biopolímero e como água intracelular. Em sistemas biológicos, a

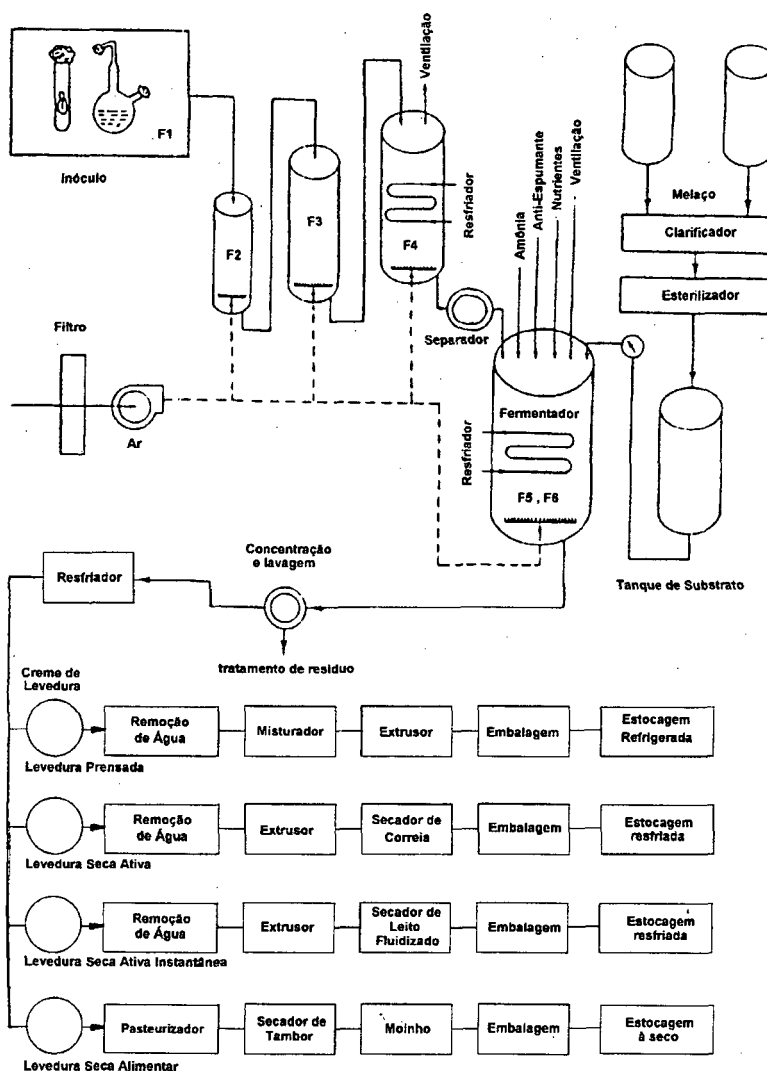


Figura II.3 - Processos de produção de leveduras de panificação e levedura alimentar (adaptado de DZIEZAK, 1987).

água de ligação é a única que está ligada com a superfície das macromoléculas do biopolímero (STRUMILLO e ADAMIEC, 1991). Foi encontrado em microrganismos ao redor de 15-18 % de água ligada. A água ligada difere da água livre em certas propriedades, uma das quais é que a água ligada somente é remo-

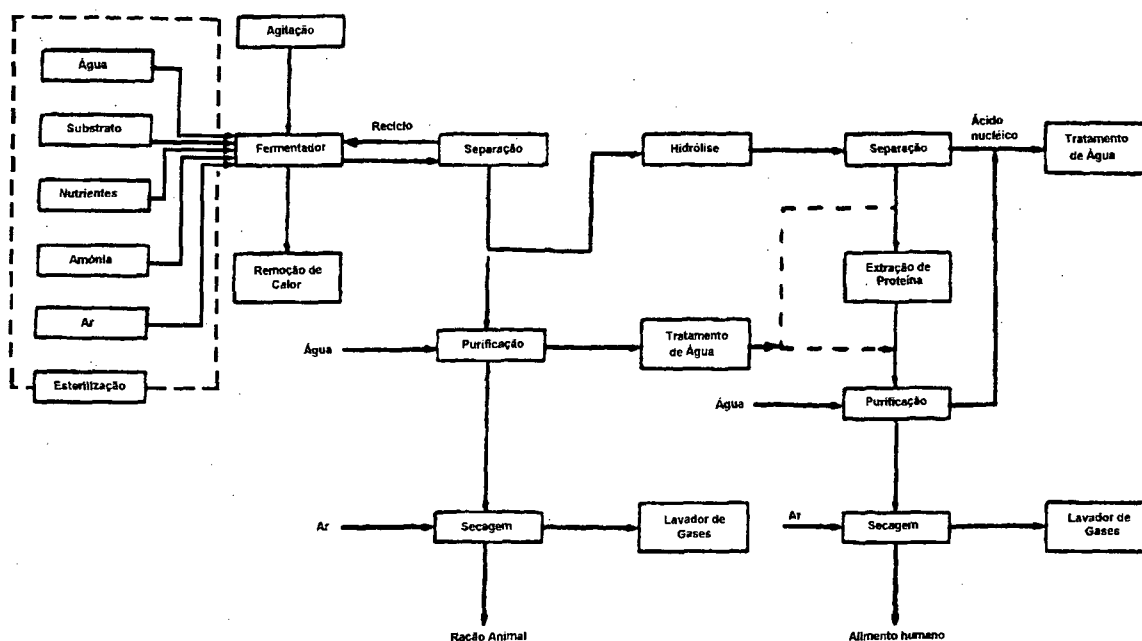


Figura II.4 - Etapas clássicas de um processo de produção de POU (extraído de TAEYMANS e LENGES, 1983).

vida fornecendo-se a quantidade de calor correspondente à energia de ligação. A água extracelular é muito mais fácil de ser extraída da biomassa do que a água intracelular, pois nenhuma barreira osmótica na forma de membrana plasmática tem que ser superada (JOSIC, 1982). Durante a preservação dos bioprodutos a inibição do desenvolvimento e transformações microbiológicas são causadas principalmente pela remoção da água do meio de reação. O nível de água removida depende da natureza do produto e na aplicabilidade do mesmo, ou seja, se após a secagem o produto permanece biologicamente ativo ou torna-se organismos vivos inativos, com determinada estrutura e composição bioquímica.

De acordo com STRUMILLO e KUDRA (1986) todos os materiais úmidos podem ser divididos em três tipos com base no seu comportamento durante a secagem:

- corpos tipicamente coloidais (gel elástico) os quais mudam de tamanho mas preservam suas propriedades elásticas durante a secagem (gelatina, ágar).

- corpos porosos capilares os quais tornam-se quebradiços, e levemente encolhidos, podendo ser facilmente moídos após a secagem (areia, carvão vegetal).

- corpos porosos capilares coloidais os quais tem as propriedades dos primeiros dois corpos. As paredes dos capilares são elásticas e elas se expandem durante a secagem (madeira, papelão, couro).

Os materiais secos também são classificados com base no estado da umidade dos sólidos, onde são divididos em higroscópico, parcialmente higroscópico e não-higroscópico.

Já TUTOVA e KUTS citado em STRUMILLO e ADAMIEC (1987) classificam os produtos biotecnológicos usando um critério especial. Segundo a resistência à temperatura elevada ou suscetibilidade à secagem, propuseram a classificação de produtos de bio-síntese dentro de 2 grupos:

1. Materiais não resistentes termicamente, ou seja, microrganismos de alta taxa de mortalidade devido ao tratamento térmico, são caracterizados por um valor relativamente alto de conteúdo de umidade crítico (i.e. o conteúdo de umidade de secagem máxima sem inativação). Essas são substâncias termo-

instáveis. Nesse grupo estão incluídas culturas bacterianas, enzimas, viroses, leveduras e fungos.

2. Bio-produtos de alta resistência térmica, cuja taxa de inativação térmica é baixa, onde o conteúdo de umidade crítica atinge alguns por cento. Essas são substâncias termo estáveis. Esse grupo envolve os produtos de síntese microbiológica (aminoácidos, bactérias selecionadas).

Outra classificação é proposta tomando como base a parte de água presente no bio-produto. Distinguem-se 2 grupos:

1. Bio-produtos no qual a água é um dos elementos decisivos para a vida e a atividade do microrganismo (bactéria, levedura, mofo) ou produtos de transformação microbiológica (enzimas). Essas substâncias são caracterizadas pela alta suscetibilidade à secagem.

2. Bio-produtos no qual a água é um solvente, um meio de trocas microbiológicas, não sendo um elemento estrutural de biopolímeros o qual define suas propriedades (antibióticos, aminoácidos, vitaminas). Esses materiais são caracterizados pela alta resistência à secagem.

Uma classificação mais ampla de produtos de bio-síntese pode ser feita tomando como critério a aplicabilidade do produto seco. O mesmo produto de bio-síntese pode ser preservado mantendo sua atividade microbiológica e estrutura biológica ou então ser desprovido de propriedades de um microrganismo vivo com sua composição química mantida. As propriedades do material úmido e seco, são mostradas na Figura

II.5. Estas propriedades devem ser determinadas e analisadas em conjunto antes, durante e após a secagem de um determinado produto para definir-se o melhor método de secagem e parâmetros do processo ótimos para seu processamento térmico.

Durante a secagem de bio-produtos ocorrem mudanças em suas propriedades, tanto bioquímicas e enzimáticas quanto químicas e físicas, como apresentado pela Tabela II.1. As mudanças bioquímicas são estreitamente conectadas à perda de água nas células e aos seus elementos estruturais individuais. Mudanças enzimáticas incluem principalmente mudanças na atividade causadas pela decomposição estrutural do bio-polímero. Mudanças químicas geralmente resultam em um decréscimo do valor nutritivo dos bio-produtos, além de uma possível formação de substâncias tóxicas ao homem. As transformações bioquímicas e químicas são frequentemente reveladas pelas transformações físicas: o bio-produto perde sua solubilidade e compostos aromáticos, além de sofrer, frequentemente descoloração.

Segundo JOSIC (1982) durante a secagem de biomassa para obtenção de levedura seca ativa, a temperatura não deve exceder 30 °C. No começo do processo de secagem, o ar tem uma temperatura maior, enquanto a temperatura da biomassa permanece num baixo nível devido ao consumo considerável de energia para a evaporação da água. Vencida esta etapa, a temperatura e umidade do ar de secagem devem ser rigorosamente controlados.

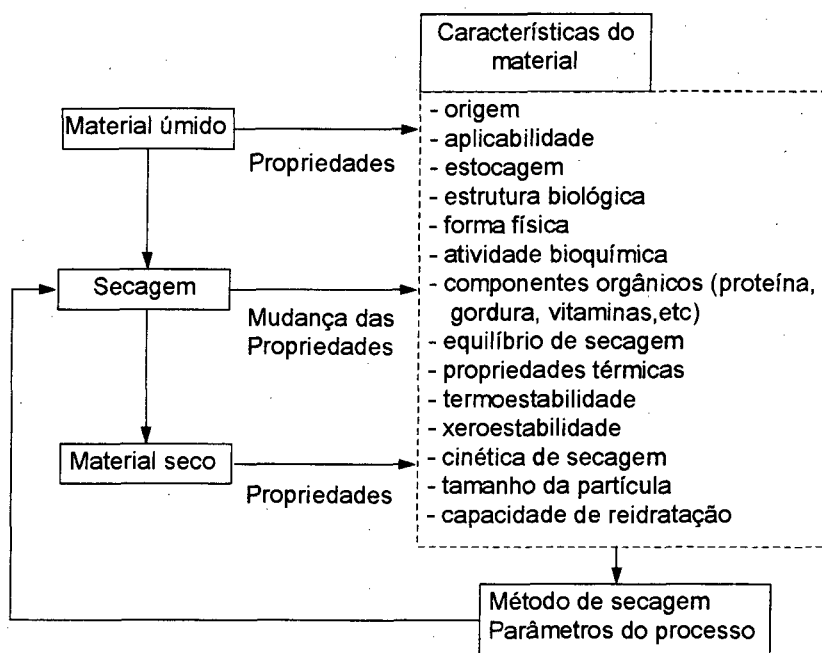


Figura II.5 - As propriedades do material úmido e seco no processo de secagem (STRUMILLO, 1991).

Tabela II.1 - Transformações nas propriedades do bio-produto durante a secagem.

Bioquímica	Enzimática	Química	Física
perda de água nas células	perda de atividade	decréscimo do valor nutritivo e atividade	solubilidade reidratação encolhimento perda de aroma
leveduras bactérias mofos	enzimas vitaminas	proteínas carboidratos gorduras aminoácidos	todos bio- produtos

II.3.1 Fundamentos da Secagem

A secagem é a retirada da água presente em um sólido úmido para uma fase gasosa não saturada. Envolve simultaneamente transferência de calor, massa e momento no qual o calor penetra dentro do produto e a umidade é removida por evaporação dentro de uma fase de gás insaturado. Devido à complexidade do processo, nenhuma teoria generalizada existe para explicar o mecanismo do movimento da umidade interna.

A intensidade da secagem, a qual reflete a troca do conteúdo de umidade com o tempo é influenciada significativamente pelos parâmetros do processo de secagem, tal como temperatura, umidade relativa do ar, velocidade do ar e também pelo diâmetro da partícula (STRUMILLO, 1986).

O comportamento de um produto no processo de secagem é representado pela curva de secagem (conteúdo de umidade, X em função do tempo, t) e a curva de cinética de secagem (taxa de secagem, R em função do conteúdo de umidade, X), como ilustrado pelas Figuras II.6 e II.7, respectivamente.

Conforme a Figura II.6, o período inicial de secagem é ilustrado pela curva A-B. Neste período de entrada em regime o produto é geralmente mais frio que o ar de secagem e a pressão parcial do vapor d'água à superfície do produto é menor, portanto a transferência de massa e por consequência a velocidade de secagem são também menores. Esse fenômeno persiste enquanto que a transferência de calor compensa

exatamente a transferência de massa. Após um curto tempo a relação $X = f(t)$ toma um caráter linear, linha BC, chamado de período de taxa de secagem constante. Durante este período a quantidade de água disponível no produto é muito grande e a água evapora como água livre: a pressão de vapor d'água à superfície é constante e igual à pressão de vapor da água pura à temperatura do produto, temperatura esta igual a de bulbo úmido. A queda linear do conteúdo de umidade com o tempo vai até o ponto crítico C com umidade X_{cr} . Após este ponto a linha reta torna-se uma curva (C-D), que aproxima-se assintoticamente ao conteúdo de umidade de equilíbrio, X_e (ponto E), chamado período de taxa de secagem decrescente. No fim deste período, o produto está em equilíbrio com o ar e a velocidade de secagem é nula.

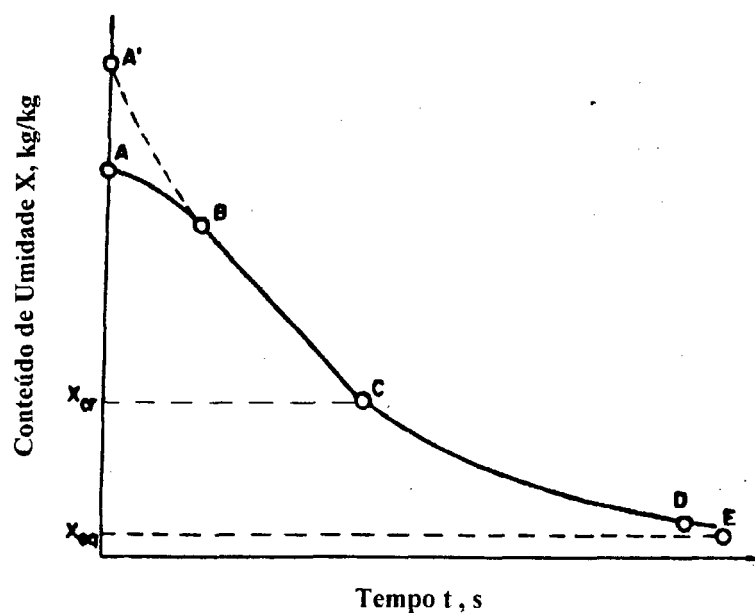


Figura II.6 - Curva de secagem

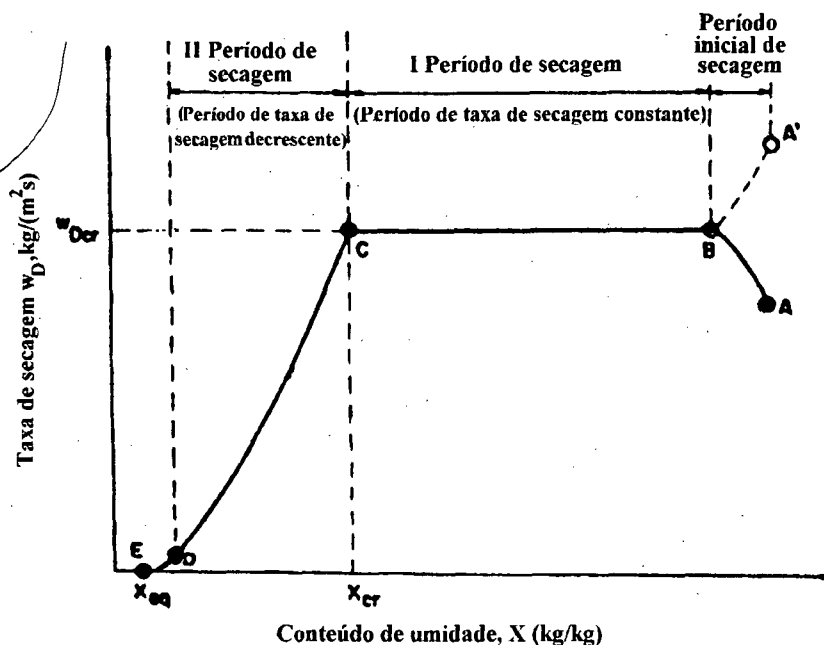


Figura II.7 - Cinética de secagem

A taxa de secagem (curva $w_D = f(X)$) é definida como a quantidade de umidade removida do material secando em unidade de tempo por unidade de superfície de secagem

$$w_D = -\frac{m dX}{A dt} \quad (\text{II.1})$$

ou

$$R = \frac{dX}{dt} \quad (\text{II.2})$$

onde w_D é o fluxo de difusão de massa na secagem, $\text{kg}/(\text{m}^2 \text{ s})$

m a massa, kg

R a intensidade de secagem, $1/\text{s}$

A a área de transferência de massa, m^2

Na Figura II.7 pode-se separar os dois períodos característicos da secagem. Antes da secagem a superfície do material é totalmente coberta por uma fina camada de líquido, tratada como umidade livre. Considerando a resistência à transferência de massa tem-se as condições externas e a camada limite do gás, limitando a taxa de secagem. A taxa de evaporação pode ser expressa por um coeficiente de transferência de massa e um gradiente de umidade do ar

$$w_D = k_g(Y_s - Y) \quad (\text{II.3})$$

onde Y_s e Y são a umidade do gás na superfície da camada de líquido e no vapor do gás principal, respectivamente.

O coeficiente de transferência de massa k_g para uma velocidade de gás constante em relação ao material permanecerá constante. A umidade Y_s corresponde às condições de saturação na temperatura da camada de líquido (T_s), e depende desta temperatura. Como a evaporação de umidade requer calor igual ao calor latente de vaporização, a superfície do líquido depois de algum tempo atingirá uma temperatura de equilíbrio (período inicial de secagem) tal que a quantidade de calor transmitida à interface líquido-ar será igual ao calor necessário para a mudança de fase. Nestas condições, Y_s permanecerá constante. Se a umidade do ar Y não mudar, a taxa de evaporação entre os pontos B e C, conforme Figuras II.6 e II.7 será constante e

igual a w_{Der} . No período inicial de secagem, tanto o material como sua superfície coberta com a camada de líquido, tem uma temperatura menor que a temperatura de equilíbrio T_s e como resultado, a taxa de secagem na faixa entre os pontos A e B irá aumentar a temperatura na superfície, atingindo o valor correspondente à linha BC. Geralmente o período de secagem inicial é muito curto e na prática pode ser negligenciado.

Quando $X < X_{cr}$ a quantidade de umidade que atinge a superfície do material começa a diminuir gradualmente. Então a pressão de vapor acima da superfície do material também diminui e de acordo com a equação (II.3) a taxa de secagem diminui. Tem-se um período de secagem decrescente (curva CD, Figura II.7). Neste período a taxa de secagem é controlada pelo transporte de umidade interna do material o qual depende do gradiente da concentração de umidade e das resistências ao seu deslocamento.

A forma da curva no período de taxa decrescente depende, entre outras coisas, do tipo de material que está sendo seco. LUIKOV citado em STRUMILLO E KUDRA (1986) mostra seis tipos de curvas de secagem no segundo período de secagem, as quais são apresentadas na Figura II.8. As primeiras duas curvas são características de corpos porosos-capilares com grande superfície de evaporação específica, como exemplo cita-se papel ou papêlão (curva 1) e têxteis e couro fino (curva 2). As outras curvas são características de corpos porosos capilares com pequena superfície específica de evaporação (cerâmica, 3 e 4, argila, 4) e para corpos coloidais (amido, 2). As curvas 4,

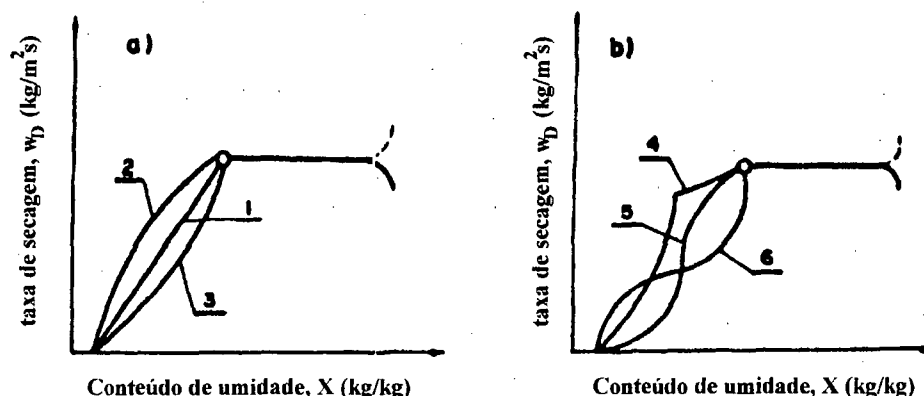


Figura II.8 - Cinética de secagem para vários materiais
(STRUMILLO e KUDRA, 1986).

5 e 6 representam corpos porosos-capilares-coloidais como milho, pão, turfa.

A forma das curvas de secagem no segundo período de taxa de secagem bem como a relação entre os dois períodos dependem das condições de transferência de massa. A Figura II.9 apresenta esboços das curvas de taxa de secagem para os casos controlados pelas condições externas, pelas condições externa-interna e pelas condições internas.

É característico que nenhum período de taxa de secagem constante será observado para a secagem de sólidos higroscópicos, e também para todos tipos de sólidos quando a secagem é controlada pela difusão interna.

A análise mais exata do período de taxa de secagem decrescente pode ser obtida usando a curva da temperatura. Duas curvas de temperatura para a superfície e o centro do material são representados na Figura II.10, as quais são importantes no

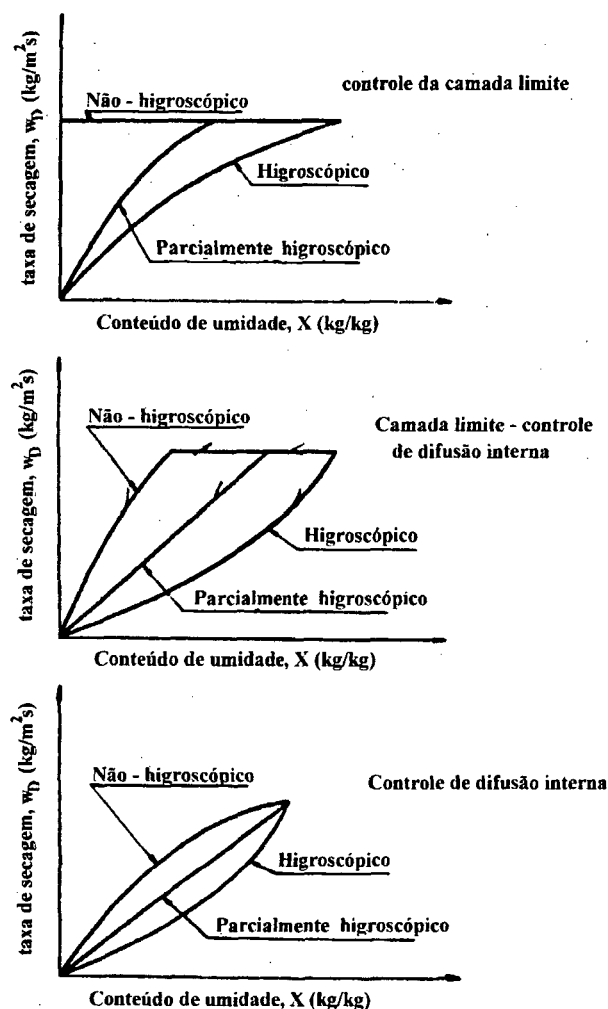


Figura II.9 - Cinética de secagem para vários tipos de problemas na secagem (STRUMILLO e KUDRA, 1986).

desenvolvimento de técnicas de secagem porque a qualidade do material seco depende consideravelmente da temperatura do processo. No período de taxa de secagem constante, a temperatura do material é geralmente igual à temperatura de bulbo úmido. É por isso que neste período de secagem altas temperaturas podem ser usadas. Muitos materiais termolábeis podem ser secos no primeiro período de secagem. As curvas de

temperatura fornecem os parâmetros de secagem ótimos em relação à qualidade do produto e à análise qualitativa de vários tipos de umidade no material a ser determinado.

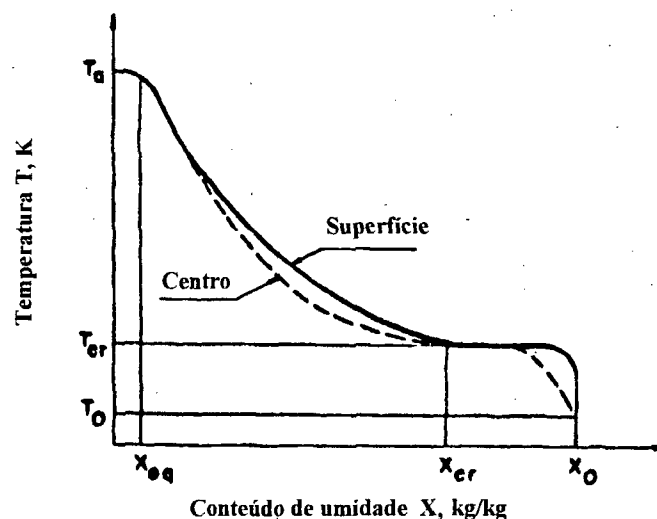


Figura II.10 - Curvas de temperatura de materiais úmidos para a superfície e centro do material (STRUMILLO e KUDRA, 1986).

No período de secagem decrescente, geralmente o único observado para os produtos biológicos, o comportamento da secagem é fixado pela migração interna de umidade. Os diferentes mecanismos de secagem que governam o deslocamento da água são:

- deslocamento do líquido sobre o efeito da força da gravidade;
- migração capilar da água líquida por ação da tensão superficial;

- difusão de líquido sob o efeito de um gradiente de umidade, descrito normalmente pela lei de Fick: é uma difusão molecular;
- difusão da água adsorvida sobre as superfícies internas dos poros vazios;
- difusão do vapor sob o efeito de um gradiente de pressão parcial de vapor d'água;
- escoamento de água sob o efeito de um gradiente de pressão total entre o interior e exterior do produto;
- migração de água líquida ou vapor devido ao efeito de um gradiente de temperatura.

Estas transferências internas de massa são influenciadas por dois fenômenos particularmente importantes para os produtos biológicos:

- migração de solutos;
- deformação do produto: os produtos biológicos frequentemente se retraem no decorrer da secagem.

II.3.2 Atividade de água

A atividade de água (a_w), e não o conteúdo de umidade de um alimento, é que indica a disponibilidade de água para o crescimento de microrganismos (deteriorantes ou não) e para a ocorrência de reações deteriorantes, como por exemplo: o escurecimento, a oxidação, e a hidrólise (VITALI, 1987).

Uma boa parte dos alimentos tradicionais, preservados pelo abaixamento da atividade de água, são desidratados, e encontram-se em uma faixa de a_w relativamente baixa ($a_w < 0,60$).

A atividade de água (a_w) é uma das propriedades mais importantes para o processamento, a conservação e o armazenamento de alimentos e sua importância é provavelmente maior que o pH, o teor de umidade e outras propriedades constantemente monitoradas em alimentos.

Segundo a termodinâmica, no equilíbrio, o potencial químico da água no alimento deve ser igual ao potencial químico de vapor de água em torno dele, ou seja

$$\mu_w (\text{vapor}) = \mu_w (\text{alimento}) \quad (\text{II.4})$$

Em baixas concentrações, o potencial químico pode ser relacionado diretamente com o potencial de pressão, definindo-se então a atividade de água segundo:

$$a_w = \frac{P}{P_o} \quad (\text{II.5})$$

onde

P = pressão parcial de vapor d'água de um produto

P_o = pressão de vapor d'água pura a mesma temperatura T

a_w = atividade de água

Assim a atividade de água de um produto é dada pela razão entre a pressão parcial de vapor da água do produto e a pressão de vapor da água pura à mesma temperatura.

A atividade de água de uma forma quantitativa é representada como sendo proporcional à umidade relativa do ar em equilíbrio com o produto, sendo dada por:

$$a_w = \frac{UR}{100} \quad (II.6)$$

A atividade de água, ou umidade relativa de equilíbrio de um produto, é a umidade relativa da atmosfera em equilíbrio com esse produto.

O desenvolvimento microbiano nos alimentos é condicionado por diversos fatores intrínsecos, bem como por fatores extrínsecos (temperatura, umidade relativa e atmosfera). A atividade de água (a_w) é um dos principais fatores intrínsecos, tendo ao lado do pH, potencial redox e composição do alimento, uma importância crítica na estabilidade biológica de diferentes produtos.

O valor absoluto da atividade de água fornece uma indicação segura do teor de água livre do alimento, sendo esta a única forma de água passível de utilização por parte dos microrganismos. No entanto, o comportamento destes frente à a_w é extremamente variável, dependendo da espécie ou cepa microbiana considerada, substrato na qual se encontra, inter-

relacionamento da a_w com outros fatores intrínsecos ou extrínsecos, tipo de solução utilizado na eventual redução de a_w . De um modo geral, quando os fatores intrínsecos ou extrínsecos afastam-se das condições ótimas para o crescimento de uma determinada espécie microbiana, a sua resistência a ambientes com baixa a_w decresce, ou seja, a a_w mínima, permitindo o seu crescimento, sofre um sensível aumento. Dentre os diferentes tipos de microrganismos, as leveduras destacam-se pela elevada tolerância à baixa a_w . A importância da atividade de água para a estabilidade dos produtos alimentícios durante o tratamento e armazenamento são mostradas pelas curvas da Figura II.11, as quais indicam as alterações físicas, químicas e bioquímicas que ocorrem em produtos alimentares e biotecnológicos.

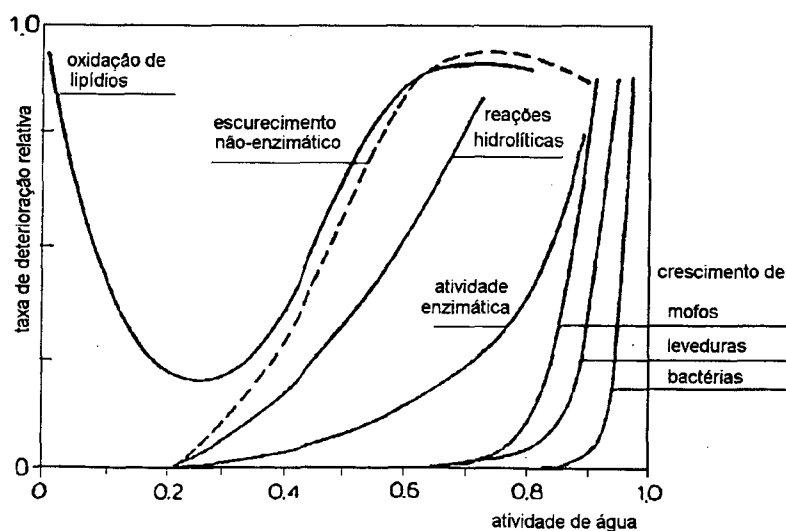


Figura II.11 - Dependência da taxa de deterioração com a atividade de água (CHEFTEL, 1988).

De acordo com estudos de CHEFTEL (1988), considera-se que:

- os microrganismos não se desenvolvem para $a_w < 0.8$. O baixo teor de umidade contudo não os destrói;
- a maior parte das enzimas se mostram inativas para $a_w < 0.8$;
- as reações de Maillard (escurecimento não enzimático dos açúcares em presença de grupamentos aminas) apresenta um máximo para $a_w \cong 0.6$ à 0.7 ;
- a oxidação dos lipídios é estimulada à atividade de água muito baixas.

De um modo geral, pode-se dizer que o ponto de conservação ótimo dos produtos biológicos, sem aditivos nem refrigeração, se situa geralmente entre 0,25 e 0,35.

O crescimento dos microrganismos dependem da a_w em razão da influência da pressão osmótica sobre as trocas através das membranas. O intervalo da a_w no qual são observados os desenvolvimentos microbianos varia de 0.6 à 0.99. Em geral, o valor ótimo da a_w para o crescimento se situa entre 0.9 e 0.99. Abaixo deste ótimo, o crescimento é moderado, retardado ou inibido. Assim, todo microrganismo é caracterizado por um valor de a_w mínimo, abaixo do qual não pode mais se desenvolver.

A Tabela II.2 representa a a_w mínima do crescimento de diferentes tipos de microrganismos.

Tabela II.2 - Atividade de água mínima de crescimento

Tipo de microrganismo	a_w mínima de crescimento
	(valor médio)
Bactérias	0,91
Bactérias halófilas	0,75
Mofos	0,80
Mofos xerófilos	0,65
Leveduras Saccharomices	0,88
cerevisiae	0,89
Leveduras osmófilas	0,60

II.3.3 Isoterma de Sorção

As isotermas de sorção são a representação gráfica da dependência da atividade de água em relação ao conteúdo de umidade de matérias alimentícias a temperaturas e pressões definidas, e são normalmente determinadas experimentalmente. Elas podem ser de adsorção ou de dessorção, conforme tenha sido feita a determinação da umidade do produto, seja ao longo de um processo de umedecimento ou de secagem.

A ocorrência de diferenças entre as isotermas de adsorção e dessorção para um mesmo produto, em condições idênticas de determinação, é muito comum, e esse fenômeno é conhecido como histerese. Segundo LABUZA (1968) várias teorias foram propostas

para explicar a histerese, mas todas elas são baseadas na água condensada nos capilares, o que significa que a histerese deveria ocorrer somente a valores de atividade de água maiores que 0,50-0,60.

A Figura II.12 mostra uma isoterma típica para produtos alimentícios com o fenômeno de histerese. Esta isoterma pode ser dividida em várias regiões segundo o estado da água presente, sendo que:

- **região A:** corresponde à adsorção de até uma monocamada de água;

- **região B:** ocorre a adsorção de camadas adicionais sobre esta monocamada;

- **região C:** ocorre a condensação da água nos poros do alimento, seguido pela dissolução do material solúvel presente.

A medida da atividade de água é realizada colocando-se uma amostra do produto estudado em contato com ar de umidade relativa conhecida e constante, e aguardando-se o equilíbrio, situação em que o teor de umidade da amostra deixe de variar.

A umidade relativa do ar a ser colocado em equilíbrio com a amostra é obtida com o emprego de soluções saturadas de sais, ácidos ou glicerol. As soluções saturadas de sais, constituindo-se num sistema de três-fases (vapor-líquido-sólido) exercem pressões parciais de vapor d'água constantes, independentes de um incremento de líquido no sistema, enquanto a solução permanece saturada, e portanto, são mais adequadas.

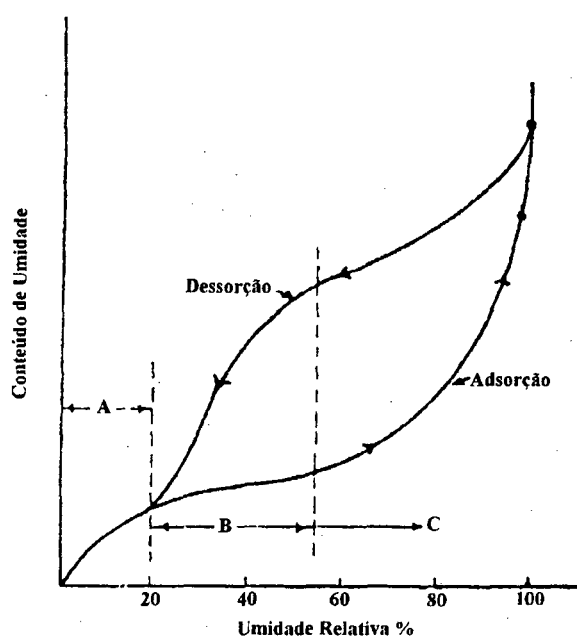


Figura II.12 - Isotermas de sorção apresentando o fenômeno de histerese.

As isotermas de sorção de umidade em alimentos fornecem informações indispensáveis ao desenvolvimento de processos (e.g. concentração, desidratação, etc.), de equipamentos e de embalagem. Permitem a determinação do valor da monocamada de água ligada ao alimento. De acordo com TEIXEIRA NETO (1987), não se deve retirar água em quantidade inferior a monocamada, pois parece ser este o limite abaixo do qual se inicia uma série de reações químicas indesejáveis no alimento, além de representar a região a partir da qual haveria um dispêndio maior de energia para a eliminação da água residual do alimento.

A relação entre a atividade de água (a_w) e o conteúdo de umidade (X) para *S. cerevisiae*, a uma dada temperatura é representada pela isoterma de dessorção da Figura II.13.

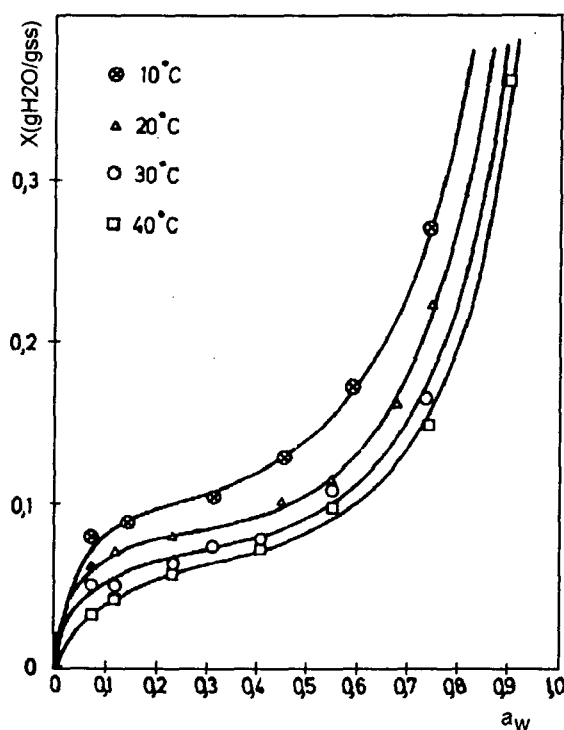


Figura II.13 - Isotermas de dessorção para biomassa de levedura de panificação à diferentes temperaturas (Josic, 1982).

III.3.3.1 Descrição teórica das isotermas de sorção

Modelos matemáticos que descrevem isotermas de sorção são de fundamental importância, pois com um certo número de pontos experimentais é possível ajustar uma isoterma teórica e desta

forma fazer a correspondência entre teor de umidade do alimento (X) e atividade de água (a_w) podendo-se extrapolar valores de difícil determinação experimental.

Para a modelagem de sorção de água em materiais porosos capilares, estão disponíveis cerca de 77 diferentes equações com grau variado de validade (RAO e RIZVI, 1986).

A equação de BET (BRUNAUER et al., 1938) é o modelo mais conhecido e usado, fornecendo um bom ajuste dos dados para uma grande variedade de alimentos situado na região de $0,05 < a_w < 0,45$, sendo expressa da seguinte forma:

$$\frac{a_w}{(1-a_w)X} = \frac{1}{X_m C} + \frac{C-1}{X_m C} a_w \quad (II.7)$$

onde a_w é a atividade de água

X o conteúdo de umidade de equilíbrio, ($g_{\text{água}}/g_{ss}$)

X_m o conteúdo de umidade da monocamada, ($g_{\text{água}}/g_{ss}$)

$C = \text{constante} = \alpha \exp(\Delta H_{BET} / RT)$

$R = \text{constante universal dos gases, cal/(g mol K)}$

$T = \text{temperatura, (K)}$

$\alpha = \text{coeficiente de ordem um}$

$\Delta H_{BET} = \text{variação do calor de sorção, cal/g mol}$

O conteúdo de umidade correspondente a monocamada teórica de água adsorvida, de acordo com a teoria de BET, deve

representar uma quantidade mínima desejável de água, bem como uma quantidade máxima permissível (SALWIN, 1963). Deve também inibir interações entre grupos polares adjacentes, preservando assim suas propriedades hidrofílicas e facilitando a reidratação.

A equação de GAB (GUGGENHEIM-ANDERSON-de BOER) de três parâmetros é um refinamento das teorias de BET e LANGMUIR e tem sido sugerida por muitos pesquisadores (SCHÄR e RÜEG, 1984; LOMAURO et al., 1984; BIZOT, 1985). A equação é escrita segundo:

$$\frac{X}{X_m} = \frac{C \cdot k \cdot a_w}{(1 - k \cdot a_w)(1 - k \cdot a_w + C \cdot k \cdot a_w)} \quad (\text{II.8})$$

onde

C é a constante de Guggenheim: $C = c' \exp[(H_l - H_m) / RT]$

c' = coeficiente de ordem um

k é o fator de correção das propriedades das moléculas da multicamada com respeito ao volume de líquido:

$$k = k' \exp(H_l - H_n) / RT$$

H_l = calor de condensação do vapor de água pura

H_m = calor de sorção da primeira camada nos sítios primários

H_n = calor de sorção das moléculas de água nas multicamadas

Este modelo fornece uma boa descrição para uma grande variedade de isotermas de alimentos na faixa de atividade de água de 0 a 0,90. A determinação dos parâmetros da equação de GAB pode ser feita diretamente através de regressão não-linear.

II.3.4 A Operação de Secagem

Nos últimos 10 anos novos métodos de secagem de leveduras tem sido desenvolvidos, contribuindo para a obtenção de uma levedura seca altamente ativa e de uma levedura alimentar de excelente qualidade.

Os procedimentos atuais de secagem possíveis de serem aplicados às suspensões ou às massas de levedura são: atomização (spray-drying), secador a tambor (drum dryer), leito-fluidizado, liofilização e mais recentemente secador rotatório com recheio de inertes. Observa-se no entanto que a maioria dos trabalhos publicados são relativos à obtenção de levedura seca ativa e não à de levedura seca inativa. A obtenção de levedura seca inativa pode ser conseguida por termolisação e posterior secagem ou unicamente por secagem. A termolisação consiste na inativação das células de leveduras pela ação do calor. Uma descrição breve da secagem de leveduras nos secadores acima citados é feita a seguir.

1. **Secagem em spray:** o secador spray é um dos modernos métodos de secagem convectiva de líquidos. O material no estado

líquido é atomizado por meio de um aparelho especial na câmara de secagem com introdução simultânea de ar quente de secagem. A umidade evapora rapidamente das gotas dispersas e um produto seco é obtido na forma de pó, granulos ou aglomerados (STRUMILLO e KUDRA, 1986), conforme representado pela Figura II.14.

O creme de levedura com teor de sólidos ao redor de 15% é alimentado à torre de atomização, não devendo ultrapassar a 20% para não comprometer as bombas e as tubulações.

A secagem por atomização consiste na dispersão de um soluto mais ou menos concentrado em gotículas extremamente finas cedendo sua água a um gás seco e quente.

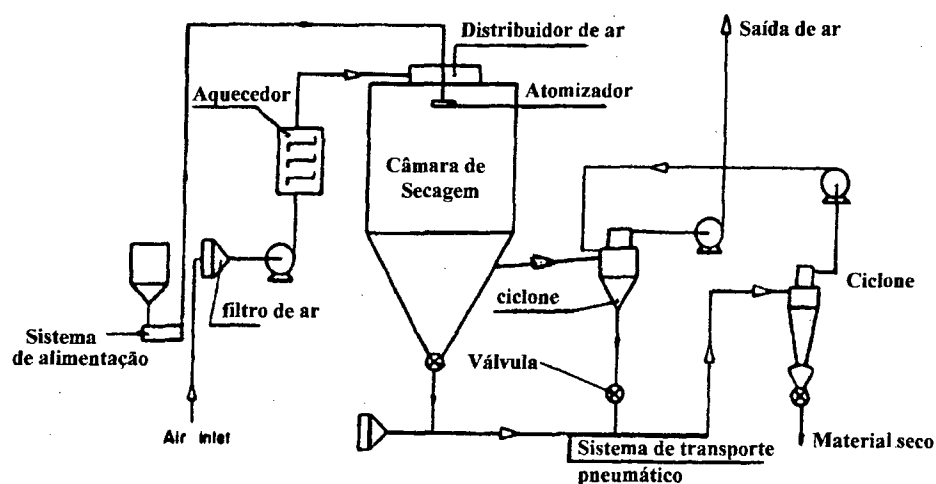


Figura II.14 - Representação básica do secador spray (STRUMILLO e KUDRA, 1986).

Segundo TAEYMANS e LENGES (1983) as condições de funcionamento de uma torre de atomização são definidas pelas seguintes variáveis:

- a temperatura do fluido de secagem na entrada;
- a viscosidade deste fluido;
- as vazões do gás e da suspensão ou da solução a secar;
- o grau de pulverização que está ligado à granulometria do produto seco;
- o teor em matéria seca da suspensão ou da solução a secar.

PERI e LABUZA citado em TAEYMANS e LENGES (1983) a partir do conhecimento do comportamento das células durante o processo de atomização, tentaram definir as condições ótimas de operação. Sabe-se que o teor de água final ótimo do produto se situa entre 6 e 8 %. As hipóteses resultantes da análise das isotermas de sorção mostram que estes teores de água correspondem à uma situação crítica para o estado da água.

PERI observou uma variação na cinética de destruição dos microrganismos no decorrer da secagem por atomização, para uma temperatura do ar de saída correspondente àqueles teores de água. Esses ensaios de secagem mostram que a mortalidade microbiana é mais rápida quando a umidade residual é abaixo de 10 %, conseguido com ar de saída na torre de secagem à temperatura de 70 a 80 °C. A redução da umidade abaixo de 10 % parece crítico para a sobrevivência dos microrganismos.

LABUZA observou que quanto mais baixa for a temperatura maior a umidade residual e maior é o número de células viáveis. Esse efeito é relativamente independente da temperatura de entrada do fluido de secagem, tanto que a atividade de água do produto fica igual à unidade, a temperatura do produto equivale à temperatura do termômetro úmido.

2. **Secador em tambor:** O processo de secagem a tambor consiste na secagem por contato, de um fino filme de solução ou suspensão, em um cilindro aquecido interiormente por vapor à uma pressão de 7 a 10 atm, girando em torno de seu eixo inclinado (Figura II.15). O produto seco é removido do cilindro sob a forma de película por meio de uma faca (NONHEBEL e MOSS, 1971).

Para estabelecer as condições de secagem, cada produto deve ser avaliado em função de sua termo-estabilidade, da porcentagem de extrato seco que pode ser atingida antes da secagem, e de sua maior ou menor facilidade em secar.

As seguintes condições de operação devem estar fixadas:

- velocidade do vapor na entrada;
- pressão do vapor;
- temperatura da solução de entrada;
- vazão de alimentação.

LABUZA e BARRERA-SANTOS (1971) estudaram a inativação de leveduras usando um creme de leveduras de 15 e 20 % de sólidos secando a 25 e 45 °C respectivamente, com um tempo de residência do material de 4 a 180 segundos. Mostraram que além

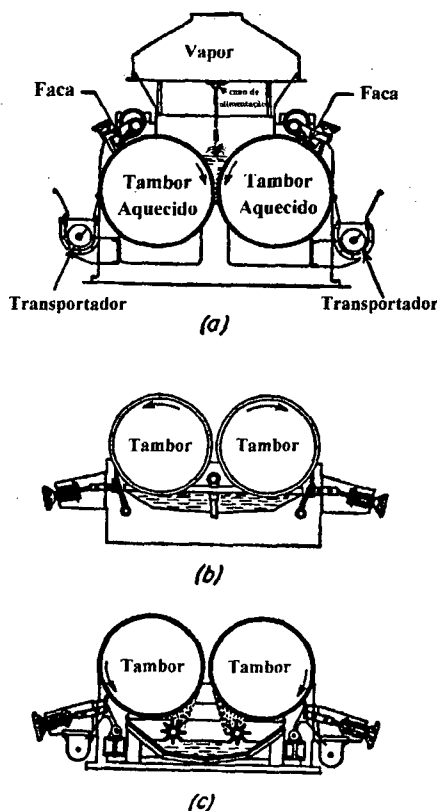


Figura II.15 - Secadores tambor: (a) duplo-secador com centro de alimentação; (b) secadores idênticos com depressão de alimentação; (c) secadores idênticos com alimentação por aspersão (Mc CABE e SMITH, 1956).

do tempo de permanência da levedura sobre o cilindro e a temperatura de secagem, a concentração inicial do creme de leveduras influencia a qualidade da levedura no produto. O produto obtido, em condições de secagem idênticas, a partir do creme de leveduras de 20% de sólidos foi de melhor qualidade, o que parece indicar que desde que o produto atinja uma umidade de 4 a 5 %, poucas reações de degradação continuam a se

manifestar. Através da contagem em placas das colônias de células eles calcularam a redução da concentração de microrganismos onde obtiveram 4 ciclos logarítmicos letais nesta secagem, entretanto eram necessários 12 ciclos logarítmicos para a obtenção de um produto estéril.

Ensaaios de secagem de leveduras termolisadas foram realizados por RHEINBOLDT, LEIMER e ROSSEL (1987) onde realizam comparações entre o secador de tambor rotativo e o turbo secador. Para obter um produto final de melhor qualidade desenvolveram um processo substitutivo de secagem de levedura, com etapas de recuperação de etanol/lavagem, desaguamento mecânico, termólise e secagem. A termólise da torta de leveduras foi obtida pelo aquecimento por vapor de escape em vaso aberto encamisado provido de agitadores-raspadores. A secagem foi realizada em um secador alternativo do tipo leito fluidizado horizontal agitado, denominado Turbo-dryer, onde a levedura é mantida em suspensão por agitador, transportada por fluxo de ar aquecido, coletada em ciclone, sendo aquecida diretamente pelo fluxo de ar e indiretamente por camisa de vapor. Esse processo resulta em reduzidos tempos de residência (3 a 5 segundos) e elevado rendimento térmico, e a levedura assim obtida não apresentou sinais de desnaturação decorrente de aquecimento desigual e/ou excessivo, apresentando umidade uniforme, aspecto granulado e dispensa a instalação de moinhos. Uma oposição ao processo convencional de secagem, composto de etapas de recuperação de etanol, termólise no leite de levedura

e secagem, utilizando secadores do tipo tambor rotativo, os quais apresentam dificuldades técnico-operacionais como pequena capacidade individual de produção, manutenção intensiva, alto consumo de vapor, além de sinais de desnaturação, umidade não-uniforme e aspecto em escamas.

Mais recentemente, SANTOS et al. (1993) e BURJAILI et al. (1994) utilizaram um secador rotatório com recheio de inertes para secar leveduras termolisadas. Estas leveduras foram termolisadas durante a destilação do álcool, na própria usina e alimentadas ao secador com 30 % de sólidos, com temperatura de secagem variando durante os experimentos de 80°C a 130°C. Contudo, nenhum comentário à respeito do comportamento do material submetido à secagem é feito.

3. Secador em leito fluidizado: o método de secagem é baseado na passagem de ar quente através de um leito de material situado em uma grade de sustentação (distribuidor de gás).

Uma filtração à vácuo permite obter levedura prensada a um teor de água em torno de 70%, servindo como material de alimentação para o processo de secagem por leito fluidizado (Figura II.16).

Uma camada de produto granulado de dimensões apropriadas é disposta sobre uma placa perfurada; uma corrente de ar ou de gás inerte atravessa este suporte de baixo para cima e a uma vazão tal que o produto seja fluidizado. A secagem é rápida e uniforme graças à grande superfície de contato ar-produto e à

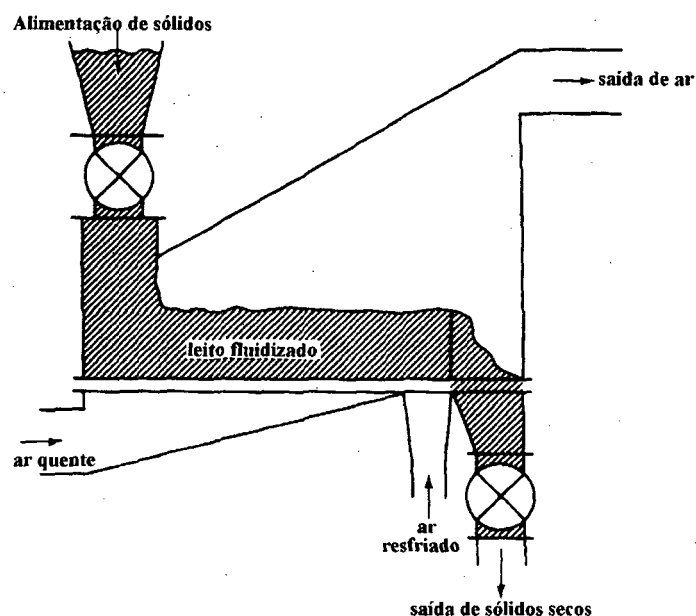


Figura II.16 - Secador de leito fluidizado (TREIBAL, 1980)

intensa agitação; o leito fluidizado é perfeitamente homogêneo do ponto de vista temperatura e umidade.

As temperaturas do ar de entrada mais adequadas se situam entre 30 e 55 °C. Para a manutenção da atividade fermentativa é importante que a biomassa seja mantida nesta faixa de temperatura, sabe-se entretanto, que se a temperatura do ar for elevada, menor será o tempo do tratamento.

Segundo CHEN e CHIGER (1986) o tempo de secagem pode variar de 10 minutos a 4 horas. Para uma secagem de 10 a 30 min, eles empregaram uma temperatura de 100-150 °C no começo do período de secagem, enquanto a temperatura da levedura se mantinha à 24-40 °C.

Em um único estágio de secagem há um risco do material se superaquecer além da temperatura máxima admissível (para levedura de panificação, de 33 à 37 °C). Como solução, eles sugerem a aplicação do sistema de multi-estágio e/ou recirculação do ar de secagem.

Com a finalidade de evitar um aquecimento exagerado da biomassa no fim da secagem no leito fluidizado, uma desidratação em duas etapas pode ser proposta:

- secagem em leito fluidizado até uma umidade residual de 20 a 25 %;
- secagem final sob vácuo para atingir 8 a 10 % de umidade residual.

4. Secagem por liofilização: A liofilização consiste em congelar o produto a ser seco e em seguida o coloca em condições de temperatura e pressão tais que o gelo sublime, ocorrendo a dessecação primária. No final desta fase, a temperatura do produto se eleva permitindo a dessorção e a evaporação de uma parte de água ligada, configurando-se assim a chamada dessecação secundária.

A fim de congelar toda a água não ligada, o produto é levado geralmente a temperaturas compreendidas entre -40 °C e -60 °C. A sublimação propriamente dita é realizada em torno de -30 °C à -40 °C.

II.3.5 Avaliação Nutricional

A composição das células microbianas é grandemente afetada por mudanças no meio e condições de cultivo. O conteúdo de RNA aumenta com a taxa de crescimento e sabe-se que as quantidades relativas sintetizadas de proteína e gordura dependem da proporção carbono : nitrogênio do meio. Quando o nitrogênio limita o crescimento, as células podem acumular grandes quantidades de lipídios.

Do ponto de vista nutricional, as leveduras foram primeiro usadas como fonte de vitaminas, porque representam uma das mais ricas fontes de vitaminas do complexo B. A concentração de muitas vitaminas do complexo B é relativamente alta, um fato que faz as leveduras serem únicas entre os concentrados protéicos de origem vegetal (BRESSANI, 1971).

A Tabela II.3 mostra o conteúdo médio de nitrogênio, gordura, cinzas e ácidos nucléicos nas células microbianas que crescem sob condições relativamente ótimas.

A composição de aminoácidos da levedura *S. cerevisiae* está apresentada na Tabela II.4, e a composição de vitaminas e minerais é apresentada na Tabela II.5. A levedura é uma das mais ricas fontes de vitamina do complexo B.

Tabela II.3 - Composição média em porcentagem de células
microbianas em base seca.

	Fungos	Algas	Levedura	Bactéria
Nitrogênio	5-8	7.5-10	7,5-8,5	11,5-12,5
Gordura	2-8	7-20	2-6	1,5-3
Cinzas	9-14	8-10	5-9,5	3-7
Ácidos Nucléicos	9,2	3-8	6-12	8-16

Fonte: KIHLEBERG, 1972.

A composição de amonoácidos de uma proteína determina seu valor como uma fonte de nitrogênio para o crescimento e sustentação. Deste modo, uma análise do conteúdo de aminoácidos fornece informação valiosa sobre o valor potencial nutricional da proteína.

A utilidade de microrganismos como uma fonte de nutrientes, parece em geral, ser limitada principalmente pela dura parede celular, pelo alto conteúdo de ácidos nucleicos, pela falta de textura viscosa, e pelo forte odor e gosto não atrativos.

Neste capítulo procurou-se fazer uma revisão da bibliografia estudada, abrangendo o assunto da melhor forma possível. No próximo capítulo apresenta-se a descrição do material e métodos utilizados na secagem e inativação de leveduras.

Tabela II.4 - Composição de aminoácidos(g/16 g N₂ da levedura)

	<i>S. cerevisiae</i>
Lisina	8,2
Valina	5,5
Leucina	7,9
Isoleucina	5,5
Teronina	4,8
Metionina	2,5
Fenilalanina	4,5
Triptofano	1,2
Cistina	1,6
Histidina	4,0
Tirosina	5,0
Arginina	5,0

Fonte: REED, 1973.

Tabela II.5 - Conteúdo de vitaminas e minerais de leveduras típicas.

Vitamina	mg/100g	Mineral	mg/100g
Tiamina	0,80	Fósforo	2100
Riboflavina	4,50	Potássio	2000
Niacina	55,0	Magnésio	300
Ácido fólico	0,40	Enxofre	200
Piridoxina	8,30	Sódio	100
Ac. Pantotênico	9,40	Cálcio	15
Biotina	0,08	Ferro	9,5
PABA	1,40	Zinco	9,3
Colina	780,0	Flúor	1,2
Inositol	460,0	Manganês	0,7
B ₁₂	0,0004		

Fonte: KINSELLA, 1987.

CAPÍTULO III

MATERIAL E MÉTODOS

Neste capítulo apresenta-se uma descrição detalhada dos procedimentos utilizados para o estudo da secagem de leveduras, bem como as características do material e os métodos analíticos adotados para a determinação do poder fermentativo e do valor nutricional das leveduras secas, e ainda a obtenção das isotermas de sorção.

III.1 CARACTERÍSTICAS DO MATERIAL UTILIZADO

O microrganismo utilizado foi a levedura do gênero *Saccharomyces* espécie *cerevisiae*, seca e ativa do tipo comercial (marca Fleischmann). Seu conteúdo de umidade inicial ficou em torno de 10 a 12 % em base úmida. A análise da composição química desta levedura está indicada na Tabela IV.5, na seção IV.4.

Amostras desta levedura foram umidificadas e homogeneizadas a um conteúdo médio de umidade de $X_0 = 75 \%$ em base úmida, antes de serem secas.

A produção de levedura seca ativa (Active Drying Yeast - ADY) depende da seleção da cepa, pois é ela que irá produzir um produto com atividade e estabilidade aceitáveis na estocagem. Mas uma maior estabilidade resulta em menores níveis de nitrogênio, acarretando uma menor atividade fermentativa.

A reidratação de leveduras em água fria pode reduzir o teor de compostos celulares devido à lixiviação. A quantidade lixiviada destes constituintes é influenciada por 3 fatores: conteúdo de umidade da levedura seca ativa, temperatura de reidratação e taxa de reidratação.

III.2 CURVAS DE SECAGEM E CONDIÇÕES DE OPERAÇÃO

III.2.1 Procedimentos para Obtenção das Curvas de Secagem

O fermento biológico seco e ativo, composto de células da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, foi umidificado e homogeneizado com água destilada a um teor de umidade inicial X_0 , em base úmida, de 75 %. Cerca de 11,5 g de amostra foram pesadas em placas de Petri, devidamente calibradas, equivalendo a uma espessura de 0,5 cm, sendo em seguida postas a secar em

estufa com reciclo de ar (FANEM modelo 320 SE) nas temperaturas de 55 °C, 65 °C, 75 °C, 90 °C e 120 °C, a condições de velocidade de ar e UR conhecidas (seções III.2.3.1 e III.2.3.2). As placas foram retiradas da estufa a intervalos de 10 minutos, resfriadas em dessecador com sílica gel, e seu teor de umidade foi obtido por técnica gravimétrica conforme seção III.4.1.

Amostras previamente termolisadas segundo o procedimento descrito na seção III.2.2, foram igualmente postas a secar sob as mesmas condições de operação (temperatura, UR e velocidade do ar) adotadas anteriormente, seguindo-se o levantamento das curvas de secagem como já indicado.

III.2.2 Termolisação

A inativação térmica das leveduras foi realizada em autoclave, a 121 °C por 30 minutos. As amostras foram testadas para se comprovar a inativação térmica, não sendo constatada qualquer atividade fermentativa.

III.2.3 Determinação Das Condições De Operação

III.2.3.1 Velocidade do ar de secagem

A medida da velocidade do ar de secagem da estufa (FANEM, modelo 320 SE) foi realizada com o auxílio de um anemômetro thermo-air tipo 442/2. Este anemômetro thermo elétrico fornece valores da velocidade em m/s e temperatura do ar em °C, sendo especialmente adequado para medir baixas correntes de ar. É possível medir velocidades de 0 a 1 m/s na faixa de temperatura de 0 a 30 °C e de 0 a 5 m/s entre -20 °C a 80 °C, com precisão de 1,5 %.

A medida da velocidade do ar foi realizada em diferentes regiões das prateleiras central e inferior, cujas dimensões são de 0,49 m de comprimento e 0,395 m de largura, possuindo 11 orifícios de saída de ar em cada compartimento. A velocidade média do ar foi de 0,5 m/s.

III.2.3.2 Umidade relativa (UR) do ar de secagem

O valor da umidade relativa (UR) nos experimentos foi obtida por meio de um psicrômetro de bulbo seco e bulbo úmido.

O cálculo foi realizado a partir das seguintes equações, cujo desenvolvimento está descrito no Apêndice II:

$$UA = 0,622 \cdot \left[\frac{\alpha}{P_{atm} - \alpha} \right] \quad (III.1)$$

$$\alpha = \exp \left[60,43 - \frac{6834,27}{T_{bu} + 273,15} - 5,17 \ln(T_{bu} + 273,15) \right] - 0,2(T_{bs} - T_{bu}) \cdot (T_{bs} + 273,15) \quad (III.2)$$

$$UR = \frac{UA \cdot P_{atm} \cdot 100}{(0,622 + UA) \cdot \exp \left[60,43 - \frac{6834,27}{T_{bs} + 273,15} - 5,17 \ln(T_{bs} + 273,15) \right]} \quad (III.3)$$

onde UA é a umidade absoluta do ar, (g água/g ar seco)

P_{atm} é a pressão atmosférica, 101325 (Pascal)

T_{bu} a temperatura de bulbo úmido, (°C)

T_{bs} a temperatura de bulbo seco, (°C)

UR a umidade relativa do ar, %

III.2.4 Cinética de Secagem

As curvas de cinética de secagem foram obtidas a partir dos dados das curvas de secagem por meio de um programa usando o método de derivação geométrica proposto por Le DUY e ZAJIC (1973), cujo princípio está descrito no Apêndice I.

III.3 OBTENÇÃO DAS ISOTERMAS DE SORÇÃO

A isoterma de adsorção informa a maior ou menor facilidade de remoção de água do produto dependendo de sua pressão parcial de vapor e relacionada à energia de ligação da água neste produto.

O método utilizado para a obtenção das isotermas de sorção emprega dessecadores os quais proporcionam uma atmosfera de equilíbrio entre as amostras e o ar com umidade relativa constante.

A manutenção da umidade relativa constante é possível a partir de soluções super-saturadas de sais, sendo que os valores das umidades relativas para diferentes sais, publicados por ROCKLAND (1960), são mostrados na Tabela III.1.

Foram levantadas isotermas de adsorção e dessorção para amostras de leveduras a 25 °C. As curvas de adsorção foram obtidas a partir de amostras com $3 \pm 0,05$ g de leveduras secas (original comercial) e leveduras umidificadas secas por 180 minutos às temperaturas de 55 °C, 65 °C, 75 °C e 120 °C, fragmentadas e preparadas conforme JARDIM (1987). Estas foram pesadas em duplicatas, em copinhos de plástico, utilizando balança analítica com precisão de 10^{-6} kg. As curvas de dessorção foram obtidas com amostras originais umidificadas, sem terem passado pela secagem em estufa, utilizando-se para as

Tabela III.1 - Relação de sais utilizados e suas respectivas umidades relativas em função da temperatura.

Sais	UR(%) p/ T(°C)					40	45	50
	15	20	25	30	35			
Hidróxido de Potássio (KOH)	10	9	8	7	6			
→ Acetato de Potássio (KCH ₃ CO ₂)	24	23	23	23	23			
→ Cloreto de Magnésio (MgCl ₂ .6H ₂ O) ^{4,40} _{7,60}	33	33	33	32	32			
→ Carbonato de Potássio (K ₂ CO ₃ .2H ₂ O)	45	44	43	42	41			
Nitrato de Magnésio (Mg(NO ₃) ₂ .6H ₂ O)	53	52	52	52	51			
Nitrito de Sódio (NaNO ₂)	-	66	65	63	62	61	60	59
Cloreto de Sódio (NaCl)	75	75	75	75	75			
Sulfato de Amônio ((NH ₄) ₂ SO ₄)	79	79	79	79	79			
Cloreto de Potássio (KCl)	87	86	86	84	84			
Sulfato de Potássio (K ₂ SO ₄)	97	97	97	97	96			

medidas cerca de 11,5 g de amostras úmidas (75 % b.u.), pesadas em duplicata.

As amostras foram acondicionadas nos dessecadores, contendo as soluções salinas saturadas, com diferentes umidades relativas, mantidas em ambiente com temperatura constante. Estas foram pesadas a cada 24 horas até peso constante, inspecionando-se visualmente o surgimento de qualquer alteração.

III.4 MÉTODOS DE ANÁLISE

Nesta seção são descritos os métodos de análise pertinentes ao presente trabalho. As medidas de teor de umidade das amostras utilizadas para a construção das curvas de secagem foram feitas por técnica gravimétrica. Visando o controle da inativação de leveduras durante o processo foram analisados o poder fermentativo remanescente e o crescimento microbiano em placas das amostras, nas diferentes condições impostas. A manutenção da qualidade nutricional foi verificada através da análise do teor protéico, carboidratos totais e extrato etéreo.

III. 4.1 Conteúdo de Umidade

O teor de umidade nas diversas amostras foi determinado através do método gravimétrico com a utilização de balança semi-analítica com precisão de 0,001 g. As amostras de leveduras previamente pesadas foram secas em estufa à 105 °C por 24 horas até peso constante.

III.4.2 Atividade Fermentativa

III.4.2.1 Análise do poder fermentativo

Esta análise tem como finalidade medir a atividade fermentativa remanescente das amostras de leveduras submetidas a diferentes condições de secagem, objetivando-se a obtenção de leveduras inativadas, ou seja, incapazes de fermentar.

A medida do poder fermentativo das amostras de *S. cerevisiae* utilizou o método aplicado a fermentos biológicos fornecido pelas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985) modificado. O procedimento desenvolvido foi o seguinte:

- Duas buretas de 50 ml, interligadas por uma mangueira provida de uma saída de água, foram preenchidas com água. A uma delas, foram depositados 2 ml de petróleo na superfície da água, cuja finalidade é impedir que o CO₂ (produto da fermentação) se dissolva na água. A bureta isenta de petróleo foi mantida à pressão atmosférica e a outra foi conectada a um frasco contendo nutrientes e mantido em banho termostatzado à temperatura de 30 °C. Um esquema do aparelho é mostrado na Figura III.1.

- O meio de nutrientes é composto de 1 g de amostra, 2 g de fosfato ácido de potássio, 1 g de fosfato ácido de amônio, 0,25 g de sulfato de magnésio, 0,20 g de sulfato de cálcio e 200 ml de sacarose à 10 %. O banho foi mantido à 30 °C por no

mínimo 3 horas para propiciar a fermentação das amostras ativas.

- Terminada a fermentação, o volume de CO_2 (V_{CO_2}) foi calculado através da equação:

$$\frac{P \cdot V \cdot 273}{T \cdot 760 \cdot A} = V_{\text{CO}_2} \text{ a CNTP} \quad (\text{III.4})$$

nas condições normais de pressão e temperatura, correspondente a 1 g de amostra, onde

P é a pressão ambiente (mm Hg)

V é o volume de CO_2 desprendido (ml)

T a temperatura ambiente (K)

A a massa de amostra (g)

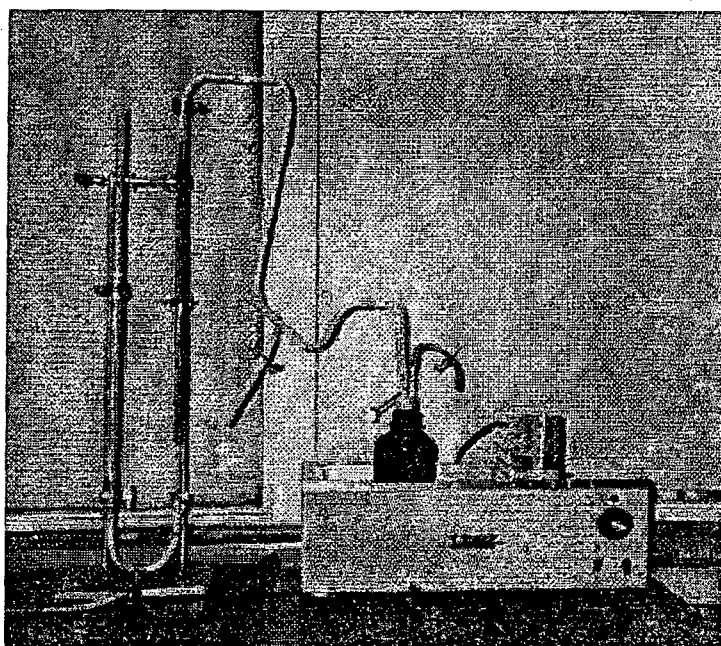


Figura III.1 - Foto do aparelho de medida do poder fermentativo residual.

III.4.2.2 Determinação de células viáveis: Contagem de Colônias

A determinação quantitativa do número de células viáveis presentes numa amostra foi realizada pela contagem de colônias em placas. Parte-se do princípio de que cada microrganismo cresce e se multiplica até formar uma massa viável - uma colônia, ou seja cada organismo dará origem a uma colônia.

O meio de cultura é preparado colocando-se uma alçada de levedura seca, em 10 ml de caldo TSB (Bacto Tryptic Soy Broth), em tubos de ensaio esterilizados. Deixa-se a seguir em estufa de cultura à 30°C por 24 horas.

Preparou-se o meio YMA conforme OLIVEIRA (1995), colocando-o em placas de Petri esterilizadas. Nestas placas foi colocada uma alçada de diluições seriadas da suspensão de leveduras com solução salina a 0,85 %, deixando-se em estufa por 24 horas.

As contagens foram efetuadas num contador de colônias de Quebec com as placas que apresentavam um número de colônias situado entre 30 e 300. A concentração é determinada multiplicando-se o número médio de colônias pelo inverso da diluição da placa de contagem e por 10, para que se obtenha a unidade em ufc(unidade formadora de colônia)/ml.

III.4.3 Proteínas Totais

A determinação das proteínas totais foi obtida através da determinação da dosagem de nitrogênio total e de nitrogênio protéico e não protéico. O método utilizado foi o Método de Kjeldahl (A.O.A.C., 1984).

III.4.3.1 Dosagem de nitrogênio total e proteína bruta

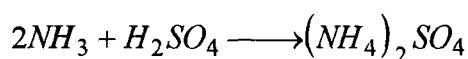
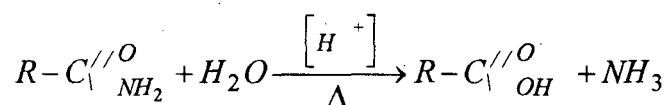
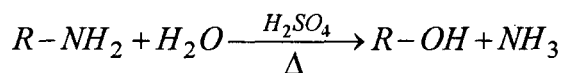
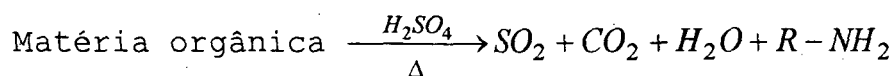
As etapas para a determinação do Nitrogênio total foram as seguintes:

- Digestão

Em um balão próprio para digestão foram adicionados 0,5 g de amostra de levedura seca, 2 g de mistura catalítica (sulfato de potássio, sulfato de cobre e selênio metálico) e 20 ml de ácido sulfúrico (H_2SO_4 96-98%, $d=1,87$), levando-se a digerir por 3 horas e 30 minutos.

A digestão ácida ocorreu em um conjunto aberto para digestão, à uma temperatura de 350 °C. O nitrogênio orgânico é transformado em amônia e os demais componentes orgânicos são convertidos em CO_2 , H_2O , etc. No final da digestão a amostra torna-se incolor, diferente do início da digestão onde apresenta uma cor escura.

As reações químicas que ocorrem durante o processo da digestão são as seguintes:

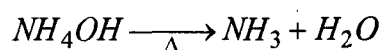
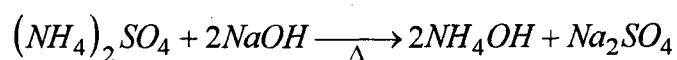


• Destilação

O frasco com a amostra digerida é conectado ao aparelho de destilação (Tecnal, TE-036/1) adicionando-se 20 ml de água destilada e duas a três gotas de fenolftaleína. Para garantir um ligeiro excesso de base, o sulfato de amônio é então saturado com solução de NaOH a 50 % por/volume, ocorrendo a liberação de NH_3 . O NH_3 desprendido é recebido em um erlenmeyer previamente adaptado ao conjunto de destilação, contendo solução de H_3BO_3 a 4 % p/v com indicadores vermelho de metila e verde de bromocresol.

A solução receptora tem a finalidade de fixar o NH_3 para que se proceda a sua titulação, sendo que o ácido bórico, quando em contato com NH_3 , forma o sal $NH_4H_2BO_3$, o qual possui uma constante de dissociação alta. Esta solução que inicialmente possui cor rosa, adquire cor verde à medida que se forma o $NH_4H_2BO_3$.

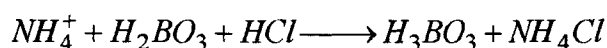
As reações químicas durante o processo de destilação são:



• Titulação

A quantidade de amônia contida na solução receptora de $NH_4H_2BO_3$ é determinada através da titulação com solução padrão de HCl 0,1N, com fator de correção previamente determinado, até viragem da cor verde para cor rosa.

A reação química que ocorre durante a titulação é:



A porcentagem de nitrogênio na amostra é dada por:

$$\%N = \frac{V \cdot f \cdot 0,0014 \cdot 100}{m} \quad (III.5)$$

sendo a porcentagem de proteína bruta expressa por:

$$\%N \cdot 6,25 = \%Proteína Bruta \quad (III.6)$$

onde V é o volume real (ml) de HCl utilizado na titulação, f o fator de correção calculado para o HCl e m a massa da amostra

(g). O volume real é obtido pela diferença entre o volume titulado na amostra e o volume titulado no branco. O branco é obtido através da digestão de apenas o ácido sulfúrico e a mistura catalítica, ou seja sem a amostra, nas mesmas condições citadas acima.

A determinação do fator de correção para o HCl é feita através da titulação do HCl com carbonato de sódio anidro (Na_2CO_3), e deve estar próximo de 1.

O fator de conversão 6,25 é usado para transformar a % de nitrogênio em proteína. Para tanto, considera-se que as proteínas possuem uma porcentagem de nitrogênio quase constante (em torno de 16 %), ou seja,

$$100 \text{ g proteína} \longrightarrow 16 \text{ g N}$$

$$x \longrightarrow 1 \text{ g N}$$

$$x = \frac{100}{16} = 6,25$$

O valor de 0,0014 é um fator devido ao fato de que 1 ml de ácido 0,1N titula 1,401 mg N, ou seja, 0,0014 g N (PELLET e YOUNG, 1978).

III.4.3.2 Dosagem de nitrogênio protéico e não-protéico

A determinação da proteína total é feita pela precipitação da proteína com acetato de cobre e sulfato de

alumínio e potássio, segundo NOVOA et alii (1993). A proteína precipitada é então separada por filtração, fazendo-se a determinação do nitrogênio não-protéico no filtrado e determinando-se por diferença o nitrogênio protéico, sendo este convertido a proteína total.

O procedimento utilizado para a determinação do nitrogênio não-protéico foi o seguinte:

- Em uma balança analítica pesou-se 1,5 a 2 g de amostra, os quais foram colocados em um balão Kjeldahl juntamente com 50 ml de água destilada, alguns grânulos de antieboluente e 1 a 2 gotas de antiespumante de silicone.

- Esta mistura foi aquecida à ebulição durante 30 minutos. Adicionou-se então 2 ml de solução de sulfato de alumínio e potássio, aquecendo-se novamente à ebulição, adicionando-se ainda mais 50 ml de solução de acetato de cobre. Procedeu-se a seguir à filtração à vácuo, lavando-se o balão e o papel de filtro (Whatman nº 541) utilizando 50 ml de água destilada.

O resíduo depositado no papel de filtro foi descartado e o líquido filtrado foi analisado pela técnica do Nitrogênio Total, usando-se 20 ml do líquido filtrado, 2 g de mistura catalítica e 20 ml de H_2SO_4 , e digerindo-se por 3,5 horas.

O teor de nitrogênio não-protéico foi calculado pela equação (III.5). Pela subtração do nitrogênio não-protéico do valor do nitrogênio total, obtém-se o teor do nitrogênio

protéico, sendo este convertido então à proteína total (equação (III.6)).

III.4.4 Carboidratos Totais Disponíveis

A análise dos carboidratos totais foi realizada para determinar a quantidade de açúcares presentes na amostra original e após o tratamento térmico. A finalidade é de observar a influência destes açúcares sobre as curvas de adsorção e eventuais alterações na amostra devido à utilização destes por parte das células de leveduras.

A determinação dos carboidratos totais foi realizada conforme NOVOA et alii (1993), considerando que estes são compostos de amido hidrolizável e açúcares solúveis.

O método baseia-se na obtenção de um extrato composto de 1 g de amostra seca, 10 ml de água destilada e 13 ml de solução de ácido perclórico filtrado e diluído em balão de 250 ml.

São preparadas amostras com 1 ml de extrato e amostras com 1 ml de solução de glicose a 1 %. Em ambas adicionam-se 5 ml de reativo Antrona e se aquece em banho-maria por 12 minutos. A determinação da absorbância foi feita em espectrofotômetro com comprimento de onda de 630 nm. Os valores de absorbância obtidos para a glicose são determinados através de uma curva de calibração, concentração de glicose em função da absorbância.

O cálculo dos carboidratos totais é feito a partir da curva de calibração da glicose, através da equação obtida por regressão linear. Assim, encontram-se os valores das concentrações de açúcares para as absorbâncias lidas das amostras de extrato. A concentração de carboidratos totais é expressa em porcentagem.

III.4.5 Gordura Bruta

A determinação do extrato etéreo ou gordura bruta foi executada segundo NOVOA et alii (1993) para analisar a quantidade de gordura na amostra e possíveis alterações com o tratamento térmico.

As gorduras ou lipídios são substâncias insolúveis em água mas solúveis no éter, clorofórmio, benzeno e outros solventes orgânicos chamados de extratores. O grupo inclui as gorduras e muitos outros compostos intimamente ligados ou associados, tais como: fosfatídeos, esteróis (colesterol), clorofila, óleos voláteis, resina, etc.

Neste método, as gorduras da amostra são extraídas com éter de petróleo e calculadas como porcentagem de peso depois de evaporado o solvente.

O éter usado no processo é aquecido (50 °C) até tornar-se volátil e, ao condensar-se, circula sobre a amostra em análise, arrastando toda a fração gordurosa e demais

substâncias solúveis em éter. Este é recuperado em outro recipiente, enquanto a gordura extraída é calculada por diferença de pesagem.

O cálculo é feito pela seguinte equação:

$$\% \text{ extrato etereo} = \frac{100 \cdot m_{\text{gordura}}}{m_{ss}} \quad (\text{III.7})$$

onde m_{gordura} é a massa de gordura (g), resultante da diferença entre a massa do balão com gordura da amostra e a massa do balão limpo e seco, e m_{ss} a massa inicial de amostra seca (g).

Este capítulo apresentou a descrição do material utilizado e dos métodos de análise do estudo da secagem e da inativação de leveduras. No próximo capítulo será apresentado os resultados e discussão do presente estudo.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo apresentam-se os resultados do estudo do comportamento de leveduras (*S. cerevisiae*) durante a secagem. Procurou-se associar as curvas cinéticas de secagem com a inativação fermentativa. A análise da composição do valor nutricional das amostras foi realizada através da medida do teor protéico, carboidratos totais e extrato etéreo. O levantamento das isotermas de sorção, que estabelecem a relação entre a quantidade de água adsorvida na amostra e a umidade relativa do ar em equilíbrio com a mesma, é também apresentado.

IV.1 Características da Levedura

O produto sobre o qual versa o presente estudo é composto de células de leveduras *Saccharomyces cerevisiae*, apresentando variações em sua composição decorrente da seleção da cepa ou cultura utilizada, devendo apresentar atividade e estabilidade aceitáveis durante a estocagem. Além disso, sendo um produto vivo, modifica-se durante a secagem influenciando

diretamente na cinética do processo e na definição do teor protéico.

Durante a secagem de leveduras deve-se considerar a temperatura de secagem, a taxa de secagem e o conteúdo de umidade final da levedura, pois há algumas perdas nos sólidos devido à respiração durante a primeira fase de secagem.

IV.2 Análise das Curvas de Secagem

Em uma primeira etapa deste estudo foram obtidas as curvas de secagem e de cinética de secagem para as amostras de leveduras apenas umidificadas e umidificadas com posterior termolisação. O processo foi desenvolvido às temperaturas de 55 °C, 65 °C, 75 °C, 90 °C e 120 °C, com uma velocidade do ar de secagem de 0,5 m/s, objetivando a obtenção de levedura seca inativa. A utilização de diferentes temperaturas durante o processo de secagem teve como finalidade a verificação do efeito térmico sobre a massa celular.

Amostras de leveduras secas nas temperaturas de 55 °C, 65 °C e 75 °C apresentaram, no início da secagem, um aumento de volume. Este comportamento sugere a ocorrência de fermentação consequência do processo metabólico endógeno que ocorre nas células de leveduras e o qual, depois que certas reservas intracelulares tenham sido consumidas, conduz ao processo de

autólise, com possível desprendimento de dióxido de carbono (CO_2), uma vez que nestas amostras não foi adicionado nenhum nutriente.

Como a autólise é a desintegração de um organismo pela ação digestiva de suas próprias enzimas, ela ocorre quando as enzimas, principalmente as proteases, digerem compostos com alto peso molecular das células de leveduras. Conforme REED e PEPPLER (1973) o processo pode ser induzido pelo aquecimento das leveduras a uma temperatura em torno de 50°C , na qual a célula está morrendo mas a atividade enzimática é alta. Durante a autólise, e por causa do aumento da permeabilidade da parede celular, ocorre proteólise dentro e fora da célula da levedura. Segundo THORN (1971), os produtos liberados durante a autólise incluem álcool e CO_2 , produtos de degradação protéica como peptídeos e aminoácidos, vitaminas, componentes do ácido nucléico tal como adenina e guanina, ergosterol, lipídeos e numerosas enzimas.

Desta maneira, as curvas obtidas para as amostras de leveduras umidificadas são, a rigor, de variação de massa e não curvas de secagem. Por este motivo realizou-se uma termolisação das amostras de leveduras, previamente à secagem e obtenção das curvas de variação de umidade. A termolisação das leveduras antes da secagem objetivou assim a inativação enzimática por tratamento térmico para posterior comparação com o comportamento observado para as leveduras não inativadas.

Os ensaios de secagem são mostrados na Figuras IV.1 através das curvas relacionando a razão de massa da amostra/massa inicial da amostra (com $X_0 = 75\%$) em função do tempo para amostras umidificadas e não termolisadas postas a secar às temperaturas de $55\text{ }^{\circ}\text{C}$, $65\text{ }^{\circ}\text{C}$, $75\text{ }^{\circ}\text{C}$, $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $120\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Como é de se esperar, quanto maior a temperatura, maior a velocidade de perda de massa e menor o tempo necessário para atingir massa constante.

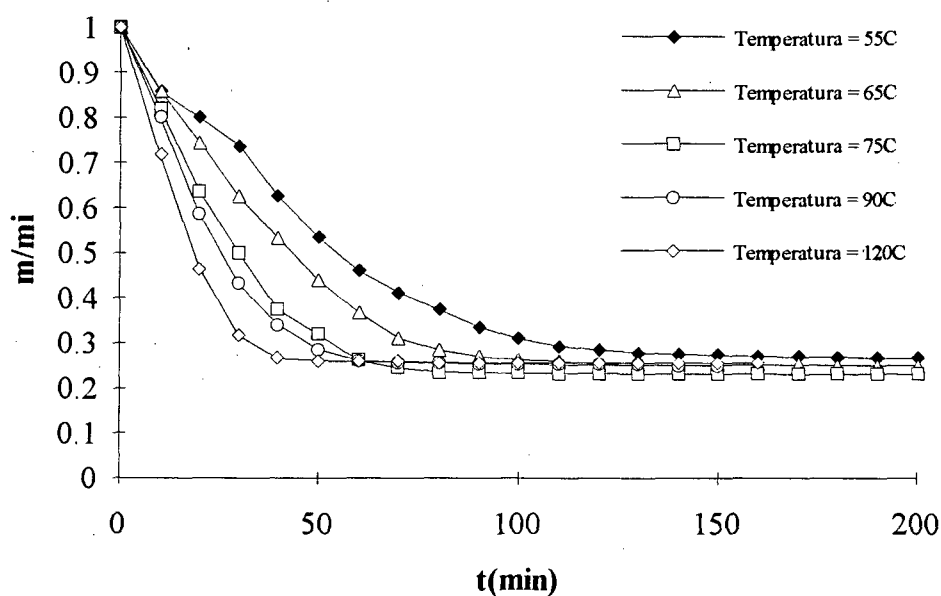


Figura IV.1 - Curvas da variação mássica em função do tempo de secagem.

Verifica-se que a $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ a velocidade de perda de massa pela amostra é maior do que nos outros casos. A Tabela IV.1 mostra os tempos e frações mássicas em que iniciam os pesos

Tabela IV.1 - Correspondência entre tempos de secagem para obtenção de razão mássica constante nas diferentes temperaturas de secagem.

Temperatura (°C)	tempo (min)	m/mi
55	160	0,27
65	130	0,25
75	100	0,23
90	80	0,25
120	60	0,26

constantes das curvas de secagem nas diferentes temperaturas empregadas. Observa-se que a 120 °C ocorre o menor tempo para atingir peso constante, embora a razão mássica final seja ligeiramente superior àquelas observadas nas outras temperaturas, exceptuando-se o caso a 55 °C. Na temperatura de 75 °C obteve-se o menor valor para a razão mássica, igual a 0,23 m/mi, o que pode indicar a melhor temperatura para a secagem e inativação das leveduras.

Durante a secagem das amostras nas diferentes temperaturas mediu-se as temperaturas de bulbo úmido para o cálculo da umidade relativa do ar de secagem. No decorrer da secagem não foi observado variações significativas para a temperatura de bulbo úmido para cada temperatura de bulbo seco

Tabela IV.2 - Umidades relativas do ar de secagem para as temperaturas de bulbo seco e de bulbo úmido.

T_{bs} (°C)	T_{bu} (°C)	UR(%)
55	29	15,79
65	30	8,75
75	33	6,50
90	38	4,79
120	40	0,95

empregada e, portanto, a umidade relativa se mostrou praticamente constante. A Tabela IV.2 apresenta os valores de umidade relativa para o ar de secagem calculados conforme seção III.2.3.2.

As Figuras IV.2, IV.3, IV.4, IV.5 e IV.6 ilustram a interferência da autólise no processo de secagem para as amostras de leveduras termolisadas e não termolisadas nas temperaturas empregadas.

As curvas apresentam diferenças na razão m/mi final entre estas amostras. As diferenças foram atribuídas em parte ao excedente de massa de CO_2 e água desprendida devido à autólise. Uma análise do poder fermentativo residual (veja seção IV.3) leva a crer que o desprendimento de gás não é uniforme ao longo da secagem, sendo mais claramente observado nos primeiros 60 minutos. A razão m/mi final obtida para as amostras submetidas à termólise e para as amostras não termolisadas são mostradas na Tabela IV.3.

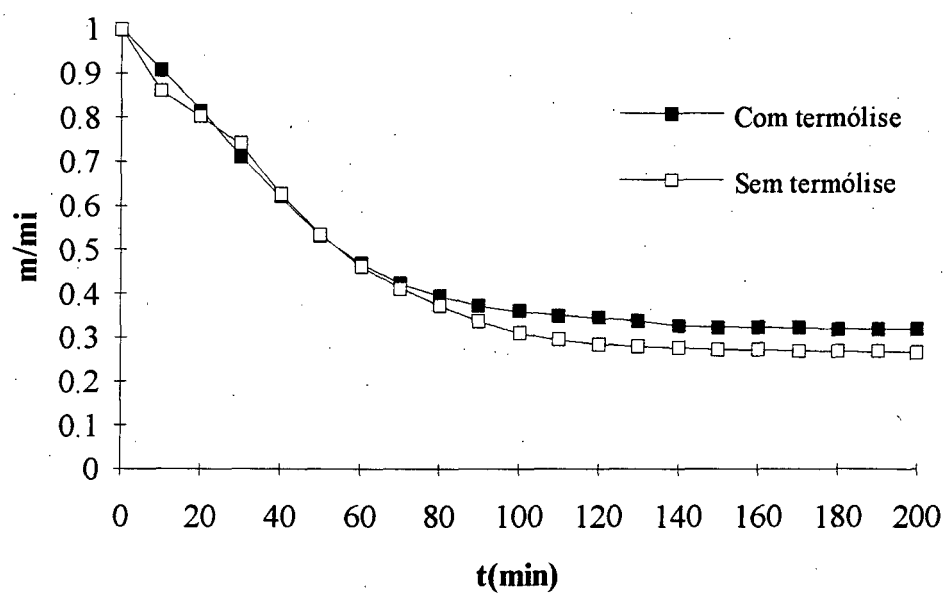


Figura IV.2 - Curvas de secagem de leveduras termolisadas e não termolisadas, à 55°C.

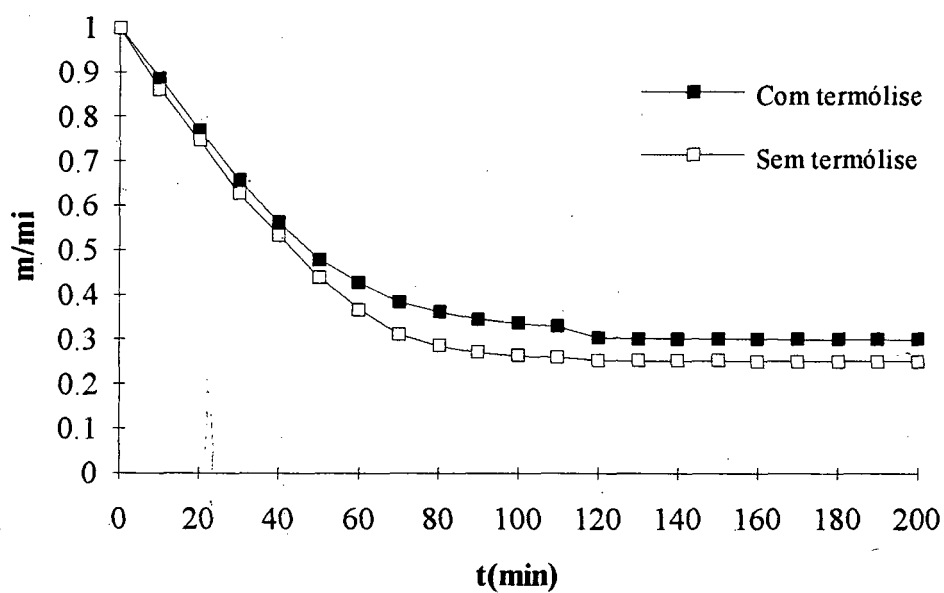


Figura IV.3 - Curvas de secagem de leveduras termolisadas e não termolisadas, à 65°C.

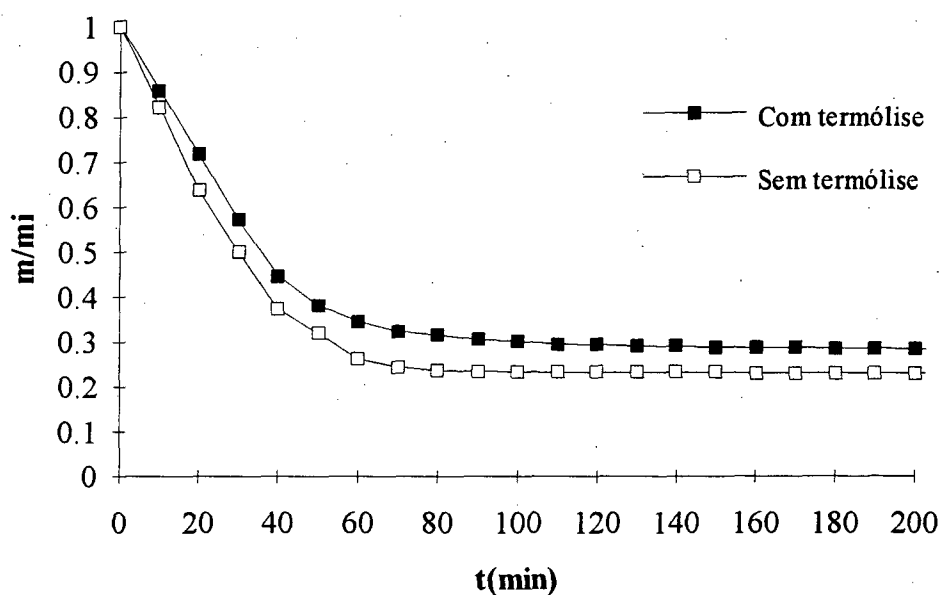


Figura IV.4 - Curvas de secagem de leveduras termolisadas e não termolisadas, à 75°C.

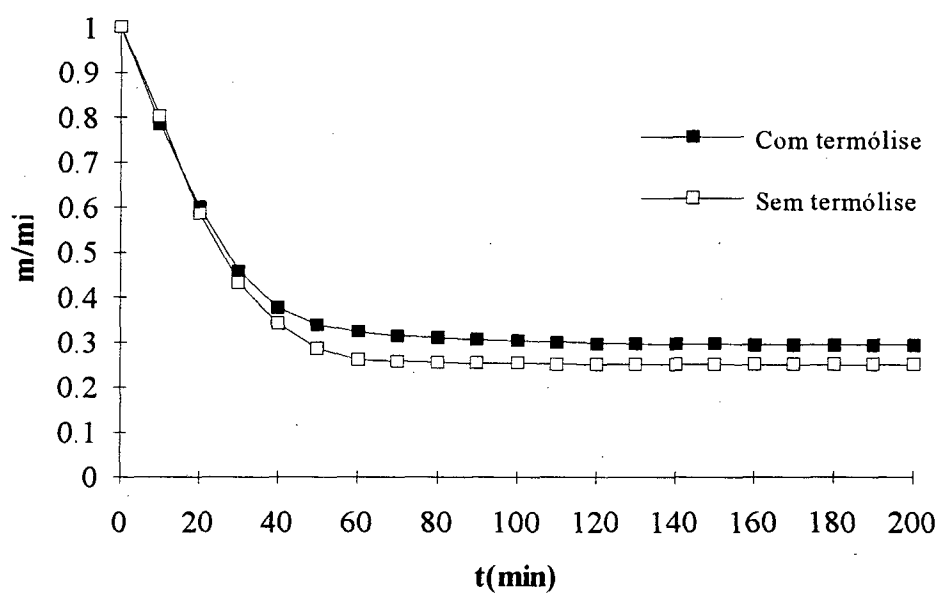


Figura IV.5 - Curvas de secagem de leveduras termolisadas e não termolisadas, à 90°C.

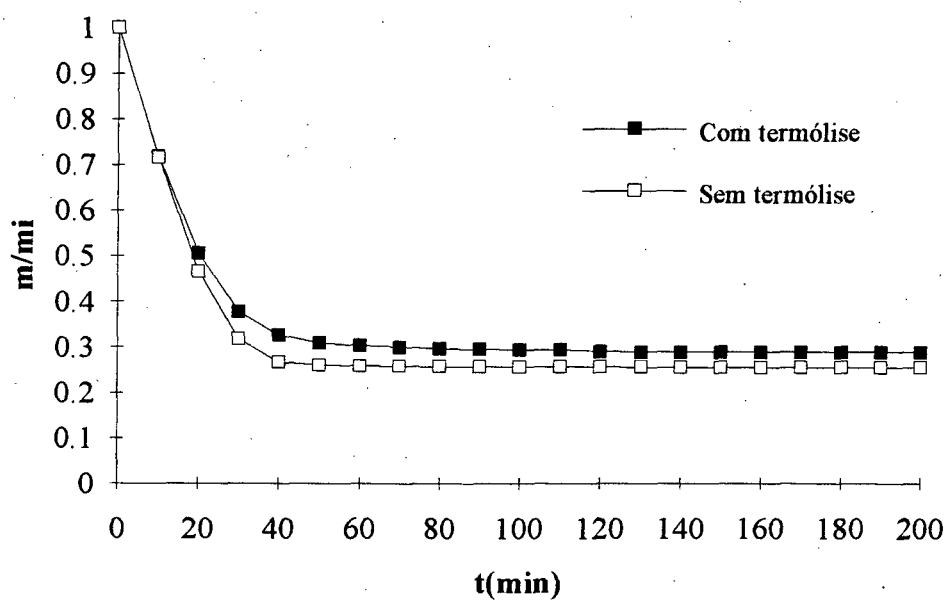


Figura IV.6 - Curvas de secagem de leveduras termolisadas e não termolisadas, à 120°C.

Tabela IV.3 - Razão mássica final para as amostras termolisadas e não termolisadas nas diferentes temperaturas de secagem.

Temperatura (°C)	m/mi		Diferença (%)
	Com termólise	Sem termólise	
55	0,317	0,265	19,6
65	0,299	0,250	16,6
75	0,296	0,229	29,3
90	0,294	0,250	17,6
120	0,289	0,255	13,3

Percebe-se pela Tabela IV.3 que a fração mássica final para as amostras termolisadas decresce com o aumento da temperatura enquanto que para as amostras não termolisadas este valor decresce e depois aumenta, mostrando que no intervalo de temperatura de 75 °C ocorre um mínimo de retenção de massa pelas amostras. Comparando-se os resultados da secagem de leveduras termolisadas e não termolisadas, fica evidente a menor perda de massa das primeiras, pois possuem maiores valores de m/m_i final. A Tabela apresenta também as diferenças entre estas curvas para cada temperatura.

Uma análise das curvas de secagem indica também que a termólise afeta a velocidade de secagem, tendendo a diminuí-las em relação à das amostras sem o tratamento térmico. Isto poderia ser justificado pelas transformações que possivelmente ocorrem durante a inativação, tais como o aumento do teor de solúveis e viscosidade, e o conseqüente aumento da resistência interna da massa celular à migração de água.

As curvas de velocidade de secagem apresentadas nas Figuras IV.7, IV.9, IV.11, IV.13 e IV.15 são apresentadas em função do tempo de secagem enquanto que as Figuras IV.8, IV.10, IV.12, IV.14 e IV.16 são curvas de velocidade em função da razão m/m_i . As diferenças na velocidade de secagem entre as amostras, estão presumivelmente relacionadas ao fenômeno de autólise.

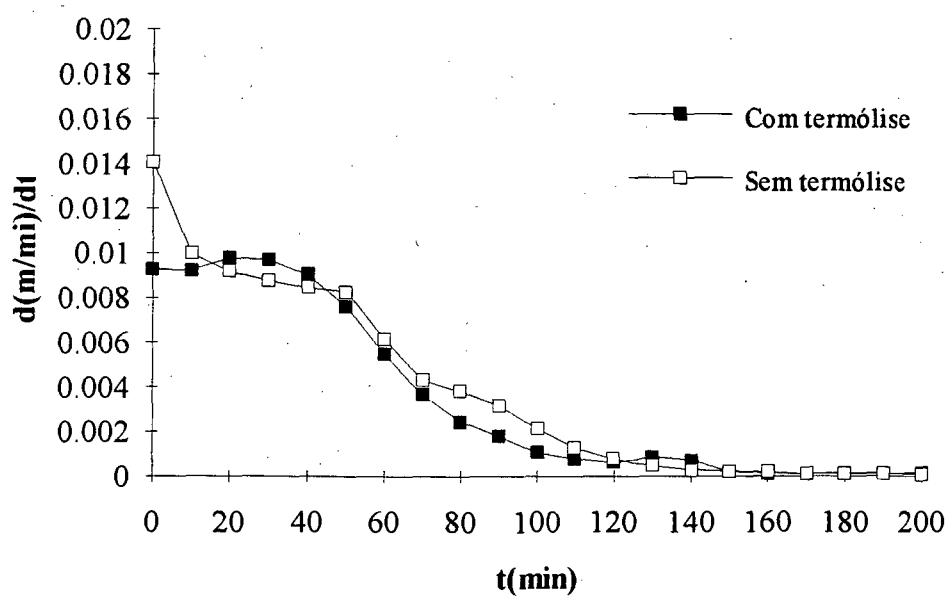


Figura IV.7 - Curvas de velocidade de secagem em função do tempo, à 55°C.

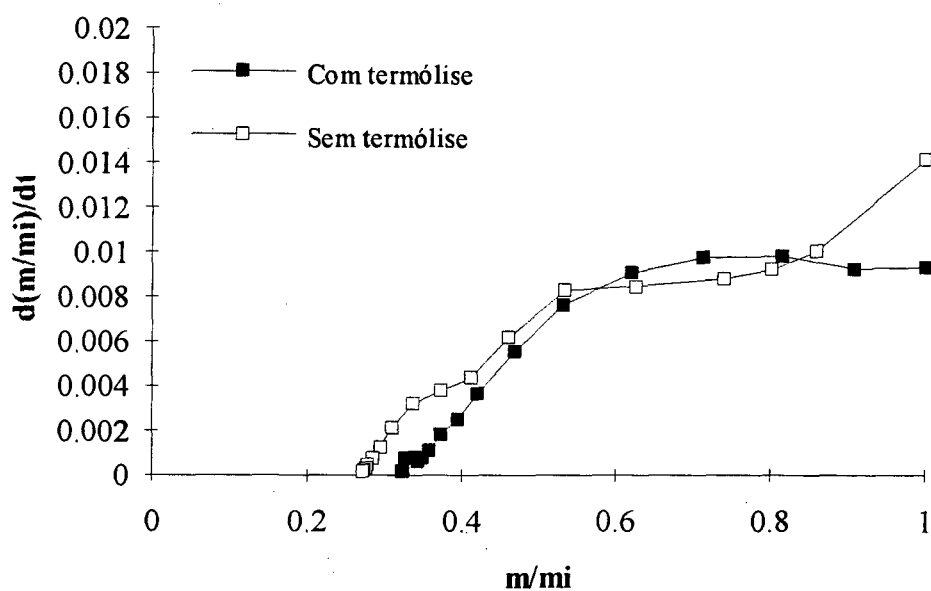


Figura IV.8 - Curvas da velocidade de secagem em função da razão mássica, à 55°C.

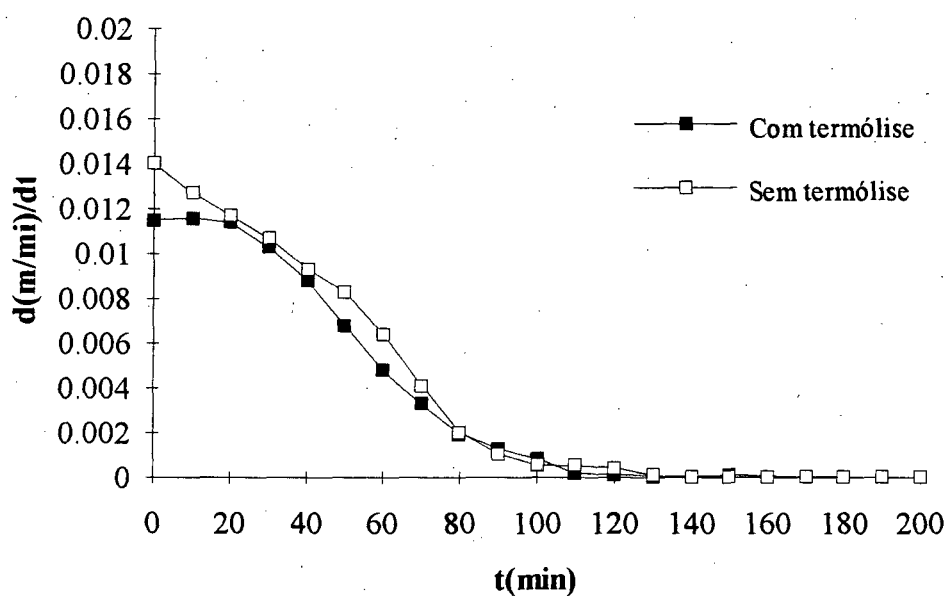


Figura IV.9 - Curvas de velocidade de secagem em função do tempo de secagem, à 65°C .

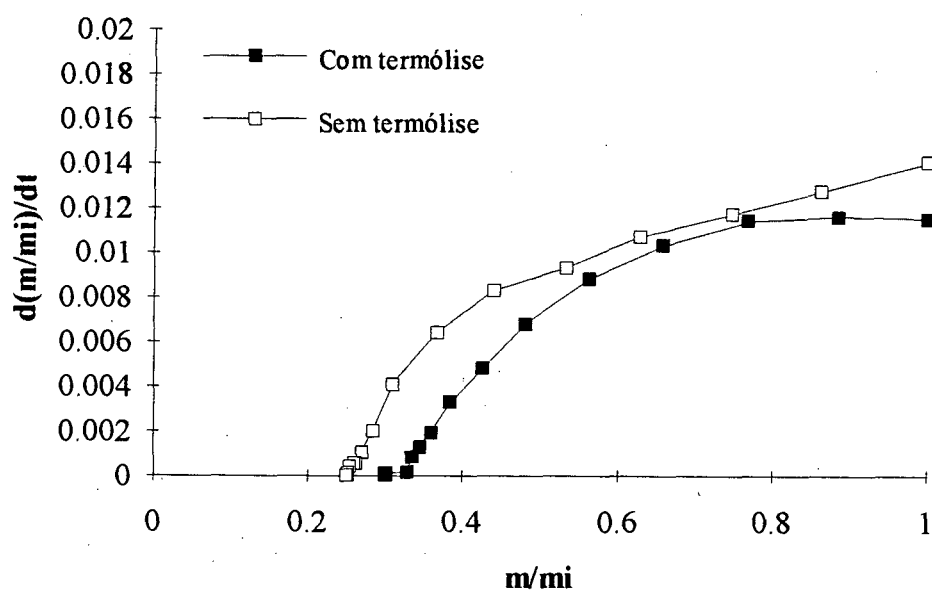


Figura IV.10 - Curvas da velocidade de secagem em função da razão mássica, à 65°C .

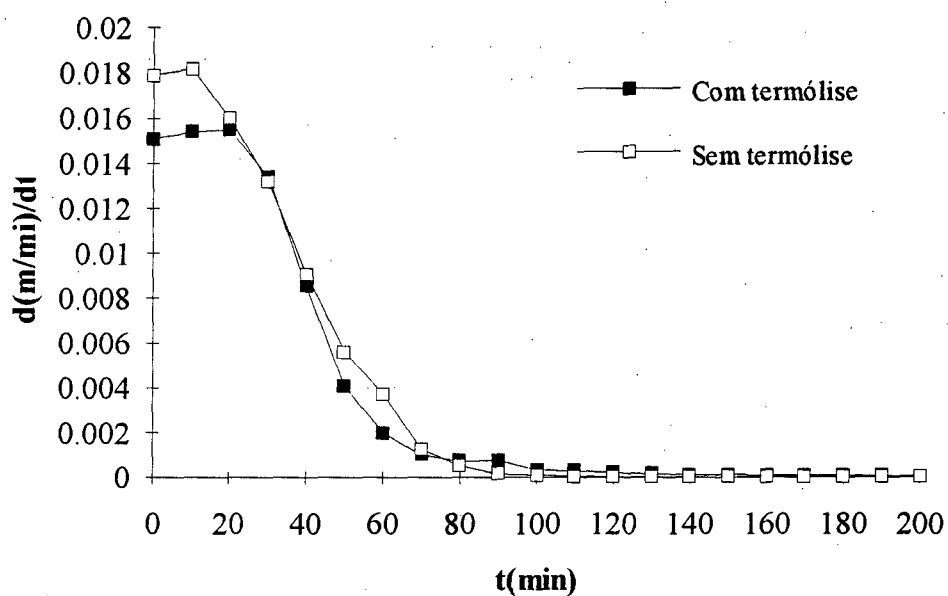


Figura IV.11 - Curvas da velocidade de secagem em função do tempo de secagem, à 75°C.

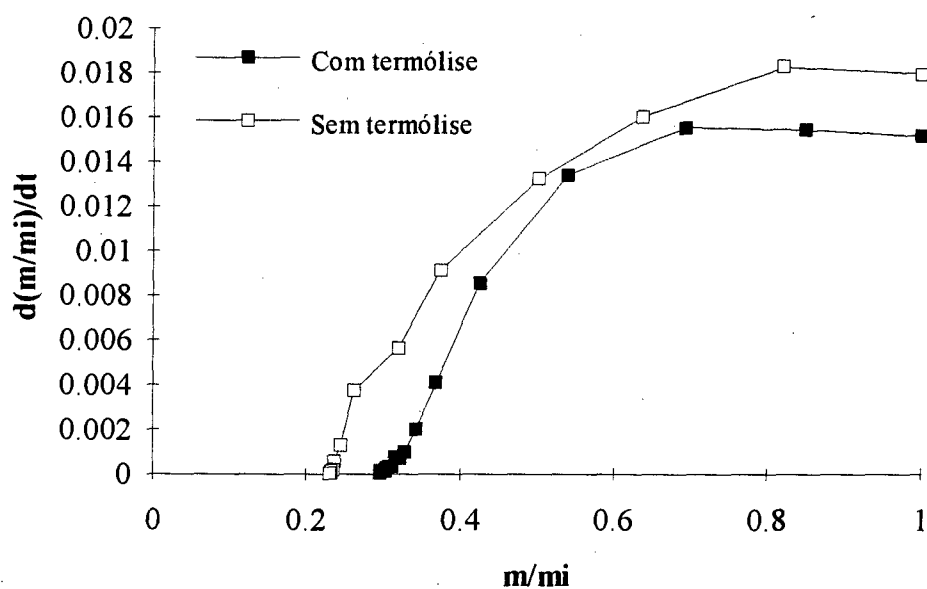


Figura IV.12 - Curvas da velocidade de secagem em função da razão mássica, à 75°C.

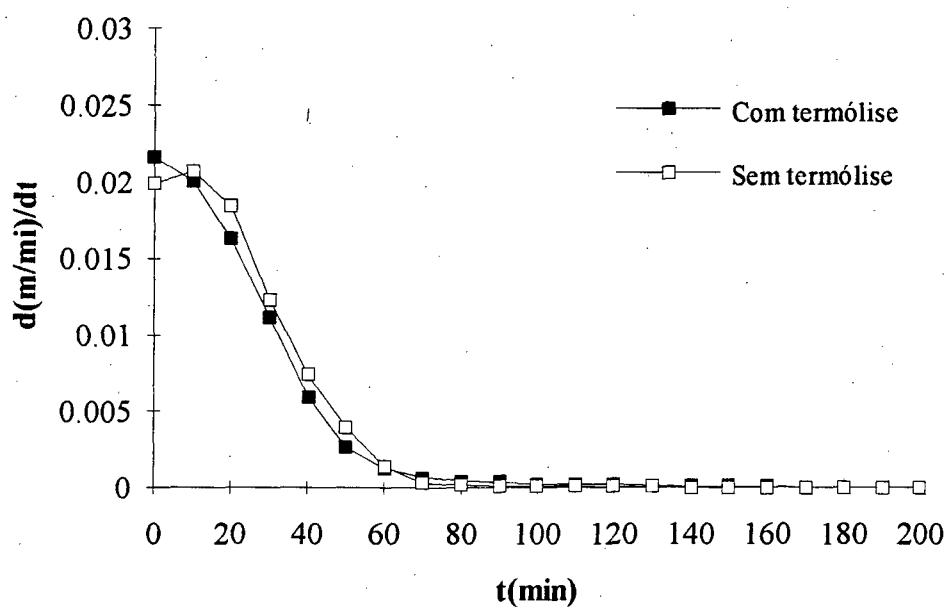


Figura IV.13 - Curvas da velocidade de secagem em função do tempo de secagem, à $90^{\circ}C$.

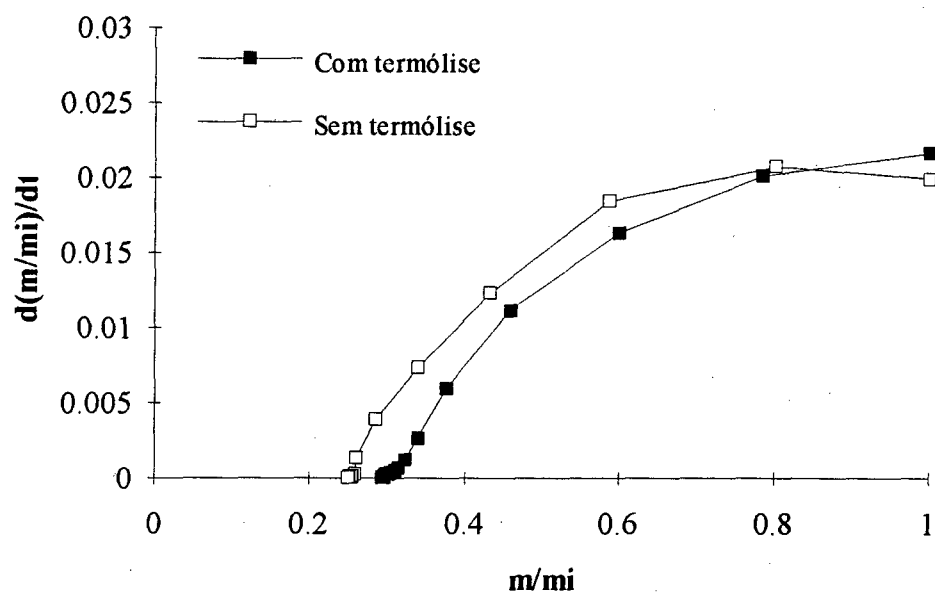


Figura IV.14 - Curvas da velocidade de secagem em função da razão mássica, à $90^{\circ}C$.

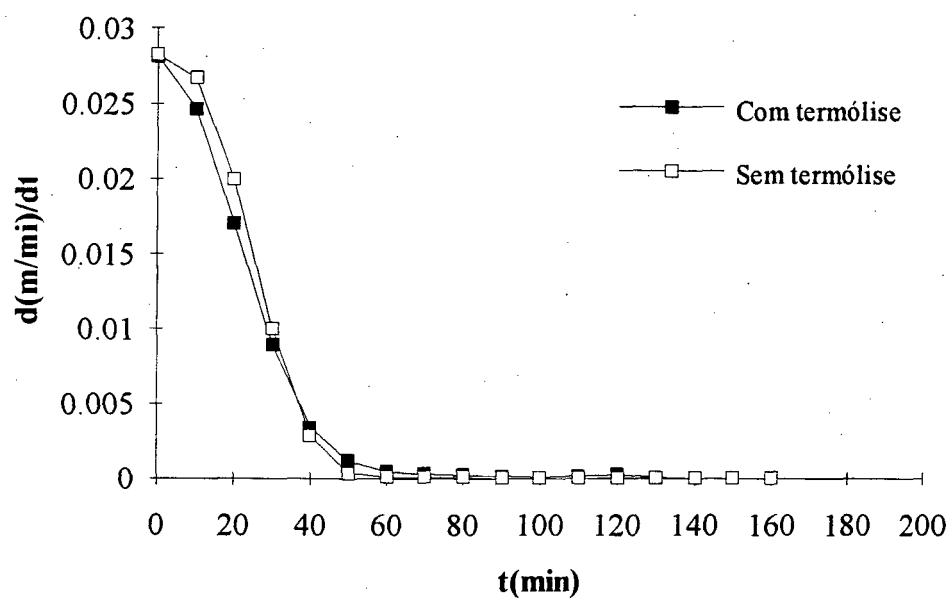


Figura IV.15 - Curvas de velocidade de secagem em função do tempo de secagem, à 120°C.

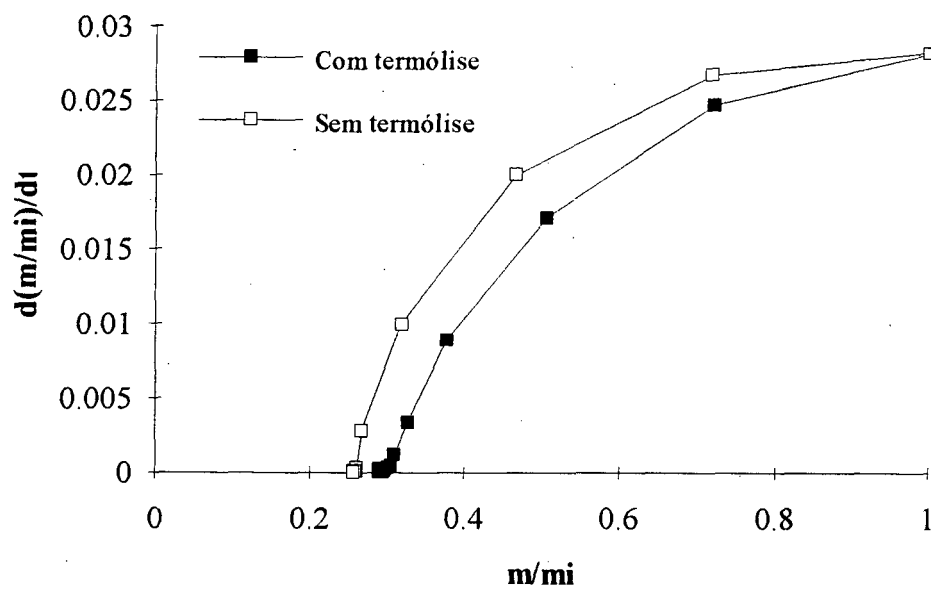


Figura IV.16 - Curvas da velocidade de secagem em função da razão mássica, à 120°C.

Nota-se pelas curvas de cinética de secagem que a 55 °C, 65 °C e 75 °C ocorrem as maiores discrepâncias entre os resultados de leveduras termolisadas e não termolisadas, parecendo indicar uma sensível influência do processo de autólise junto às amostras não termolisadas. A 90 °C as discrepâncias se apresentam menos importantes. Já para a temperatura de 120 °C observa-se praticamente o mesmo comportamento para as duas curvas, levando a crer que não ocorreria autólise à esta temperatura.

É interessante observar a mudança no comportamento das curvas de cinética de secagem em função da razão mássica para as amostras de leveduras termolisadas em todas as temperaturas de secagem, indicando um comportamento higroscópico, resultante da termolisação.

A aparência observada das amostras sem termólise e com termólise é completamente diferente. As amostras não termolisadas secas às temperaturas de 55 °C, 65 °C e 75 °C apresentaram uma estrutura porosa capilar com aparência esponjosa, na cor ocre (palha), enquanto que as amostras secas à 90 °C e 120 °C apresentaram-se como um material fissurado extremamente seco de cor caramelo, provavelmente devido a ação do calor sobre os açúcares presentes. Já as amostras termolisadas apresentaram-se como um líquido viscoso de forte odor e cor marrom, aderindo-se fortemente à placa. Conforme classificação de LUIKOV (1968) a amostra termolisada se define

como um material poroso-capilar-coloidal, enquanto que a amostra não termolisada como um corpo poroso-capilar com uma superfície específica de grande evaporação. A estrutura porosa aberta desenvolvida pelas amostras não termolisadas deve-se presumivelmente à liberação de gás carbônico, o que facilitaria a evaporação da água, evitando que o produto apresentasse um comportamento fortemente higroscópico, contrariamente ao observado com a amostra termolisada que apresentou-se bastante higroscópica.

IV.3 Análise da Atividade Fermentativa

Durante a secagem nas diferentes temperaturas de ensaio, retiraram-se do processo amostras em tempos pré-determinados a fim de testar a atividade fermentativa residual das leveduras. As análises foram conduzidas conforme descrito na seção III.4.2.1. As curvas do poder fermentativo residual apresentam picos no decorrer da secagem, associados, como se crê, à autólise. Como as leveduras foram reidratadas antes de serem secas, tal operação toma alguns minutos, até completar-se a dissolução e a homogeneização; isto propiciaria às leveduras uma fase aeróbia (respiratória) durante a qual se ativariam e poderiam realizar a autólise.

Pelas Figuras IV.17, IV.18, IV.19 e IV.20 pode-se observar a atividade fermentativa das leveduras (medida em

termos de produção de $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$) no decorrer da secagem nas temperaturas de 55 °C, 65 °C, 75 °C e 90 °C. As leveduras secas na temperatura de 120 °C não apresentaram atividade fermentativa, devido à alta temperatura de secagem que ocasionou a inativação das mesmas em tempo relativamente curto, visto que não se constatou produção de CO_2 na análise do poder fermentativo para os primeiros 30 minutos de secagem. As amostras termolisadas também foram testadas e igualmente não apresentaram atividade fermentativa.

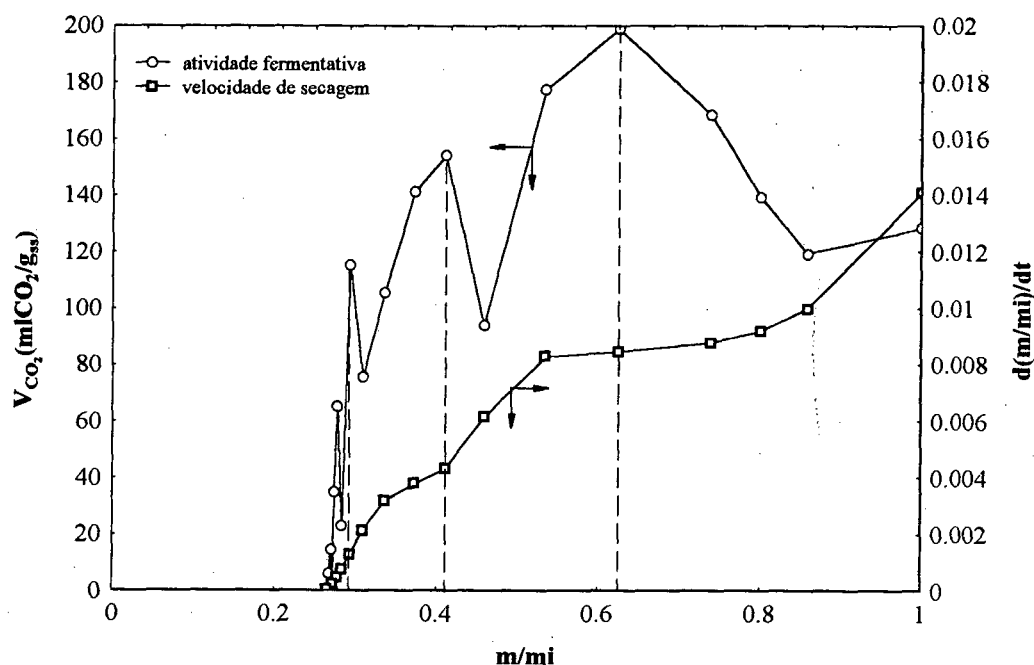


Figura IV.17 - Evoluções da atividade fermentativa (relacionada à produção de gás carbônico) e da velocidade de secagem em amostra de leveduras não termolisadas secas à 55°C.

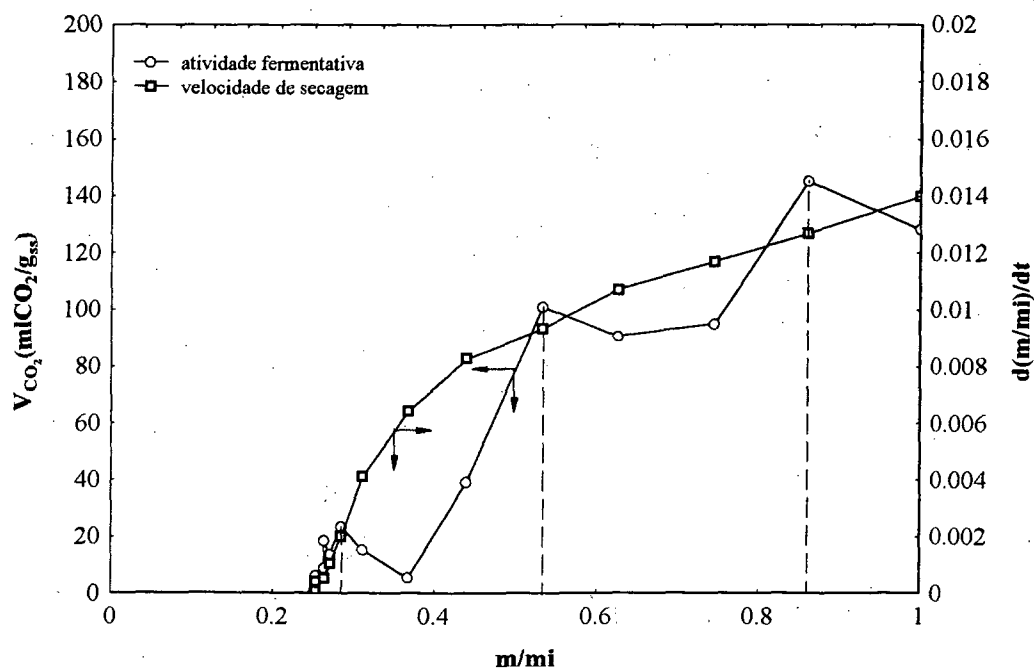


Figura IV.18 - Evoluções da atividade fermentativa e da velocidade de secagem em amostra de leveduras não termolisadas secas à 65°C.

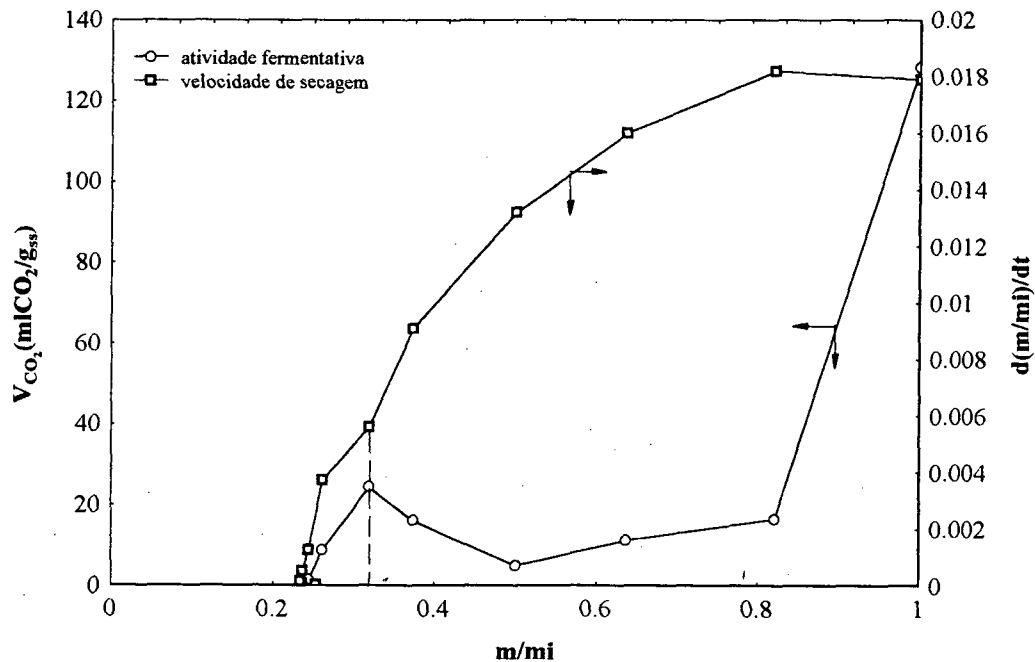


Figura IV.19 - Evoluções da atividade fermentativa e da velocidade de secagem em amostra de leveduras não termolisadas secas à 75°C.

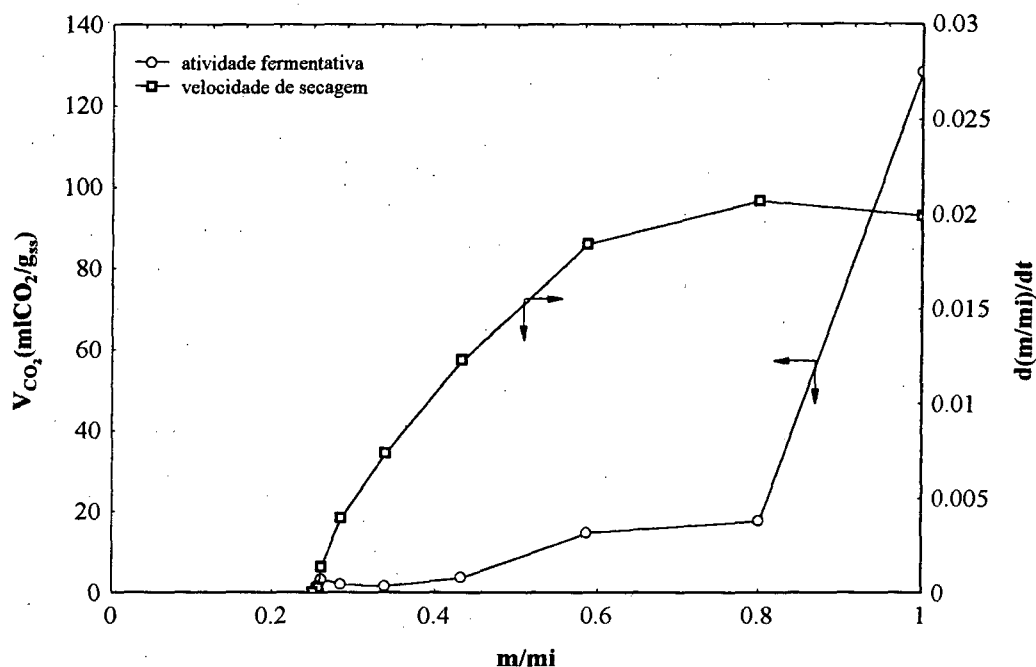


Figura IV.20 - Evoluções da atividade fermentativa e da velocidade de secagem em amostra de leveduras não termolisadas secas à 90°C.

O aumento da atividade para as amostras de leveduras não termolisadas durante o processo de secagem nas temperaturas de 55 °C e 65 °C é muito maior que a 75 °C e 90 °C, indicando que nas temperaturas de secagem mais amenas, a biomassa de levedura suporta bem o processo visto que deve se encontrar numa temperatura mais baixa (temperatura de bulbo úmido) que a do ar de secagem. A medida das temperaturas de bulbo úmido para as temperaturas de secagem de 55 °C, 65 °C, 75 °C, 90 °C e 120 °C estão indicadas na Tabela IV.2.

Através da análise dos gráficos anteriores relacionando o poder fermentativo e a velocidade de secagem, constata-se

picos de produção de CO_2 que coincidem nos valores de m/mi relativos aos pontos de inflexão das curvas de velocidade de secagem para as temperaturas de 55 °C, 65 °C e 75 °C. Nenhum pico foi observado para a temperatura de 90 °C.

A coincidência dos picos com o pontos de inflexão nas curvas de secagem sugere uma alteração no mecanismo de transferência de massa associada ao aumento do grau da atividade da levedura. Isto poderia estar relacionado ao rearranjo interno dos poros, quando diferentes componentes das células são degradados durante o processo de autólise.

Das curvas de atividade fermentativa, verifica-se também que a cinética de inativação não é linear, em concordância com o fato de que a morte das células não é resultante da desativação de somente um elemento celular, mas de vários, como por exemplo a perda de íons potássio, de aminoácidos assim como a degradação do RNA com danos na membrana (STUMBO, 1973). Esta não linearidade foi observada por LABUZA et al. (1975) onde mostram que à temperatura de 55-60 °C, em meio líquido, a taxa de mortalidade das leveduras atinge um mínimo na faixa de atividade de água de 0,75 à 0,85. Eles observaram também que as leveduras são mais resistentes ao calor durante a fase estacionária do que durante a fase exponencial de crescimento.

A quantificação do poder fermentativo mostra ainda que as amostras de leveduras estão completamente inativadas após 120 minutos de secagem à 75 °C e 90 °C, 200 minutos para a

temperatura de 65 °C e 300 minutos de secagem para a temperatura de 55 °C. Já para a temperatura de 120 °C ocorreu a inativação nos primeiros 10 minutos.

Uma comparação entre a atividade fermentativa das leveduras com o crescimento de células viáveis em placas é realizada na Tabela IV.4.

Percebe-se pela Tabela que houve crescimento de células nas temperaturas de secagem que não apresentaram atividade fermentativa. E pelo cálculo dos ciclos logarítmicos seriam necessários 7 ciclos log de mortes para obter a destruição total das células de leveduras.

O microrganismo utiliza a glicose tanto por via fermentativa, com produção de etanol e CO₂, como se verifica na análise do poder fermentativo, quanto por via respiratória, na produção de células, como se dá durante o crescimento em placas. Durante as análises, constatou-se que, mesmo crescendo em placas, em certos casos as leveduras não mostraram produção sensível de CO₂. Note-se que o método adotado para quantificação da produção de CO₂ é pouco sensível e portanto incapaz de detectar atividades fermentativas muito fracas ou incipientes.

Tabela IV.4 - Comparação entre o volume de CO₂ produzido pelas leveduras secas com o crescimento de células em placas.

T (°C)	t (min)	V _{CO2} (ml/gss)	ufc/ml
55	90	105,42	5,8.10 ⁵
	180	6,64	1,2.10 ⁶
	240	1,27	1,64.10 ⁶
	300	0	2,2.10 ⁵
65	60	39,1	2,30.10 ⁷
	120	6,10	1,15.10 ⁶
	180	0	+3.10 ⁶
	240	0	+3.10 ⁵
	300	0	2.10 ⁴
75	50	16,13	1,62.10 ⁵
	100	0	3,54.10 ⁶
	190	0	+3.10 ⁵
	240	0	+3.10 ⁴
90	30	3,78	3,5.10 ⁵
	60	3,31	4,4.10 ⁵
	90	1,03	2.10 ⁴
120	30	0	1,5.10 ⁵
	60	0	1.10 ⁴
	90	0	0

IV.4 Valor Nutricional das Leveduras Secas

A determinação do valor protéico das leveduras foi realizada com a análise do teor protéico pelo método de Kjeldhal (seção III.4.3) para as amostras de leveduras secas.

Os resultados de teor protéico para as amostras de leveduras usadas como matéria prima para o presente processo e aquelas submetidas à secagem nas temperaturas de 55 °C, 65 °C, 75 °C, 90 °C e 120 °C estão apresentadas na Tabela IV.5 e IV.6.

Tabela IV.5 - Análise da composição química da levedura original comercial.

Componente	Quantidade em gss%
Nitrogênio Total	7,61
Carboidratos Totais	12,14
Gordura bruta	0,06

A medida do teor protéico realizada para as diferentes temperaturas de secagem apresentaram valores próximos, com os valores de Nitrogênio Total se mantendo praticamente constantes, para os diferentes tratamentos térmicos.

A determinação de nitrogênio total (N_T), nitrogênio não-protéico (N_{NP}) e nitrogênio protéico (N_P) foi realizada para tempos de secagem que garantissem a inativação nas temperaturas de 55 °C e 120 °C. O valor de proteína total (P_T) é obtido a partir do nitrogênio protéico como apresentado na seção III.4.3.2. A Tabela IV.7 apresenta os resultados desta análise para a levedura original em comparação com a inativada. Diferenças nos valores de nitrogênio total entre as Tabelas IV.6 e IV.7 são devido à diferentes lotes de leveduras comercial.

Tabela IV.6 - Valores de teor protéico para as amostras de leveduras secas.

Secagem T (°C)	Nitrogênio Total (g _{ss} %)	Proteína Bruta (g _{ss} %)
55	8,14	50,9
65	8,25	51,6
75	8,00	50,0
90	8,10	50,6
120	8,00	50,0

Tabela IV.7 - Composição de nitrogênio protéico e não-protéico nas amostras de leveduras secas inativadas.

Temperatura/tempo	N _T (g _{ss} %)	N _{NP} (g _{ss} %)	N _P (g _{ss} %)	P _T (g _{ss} %)
original comercial	7,62	1,24	6,38	39,9
55°C-6h	7,74	1,34	6,40	40,0
120°C-90min	7,79	1,31	6,48	40,5

Esta análise não permite avaliar o grau de desnaturação das proteínas. Sabe-se no entanto, que a desnaturação começa a ocorrer a temperaturas superiores a 65 °C, com a quebra das cadeias polipeptídicas, a qual é uma reação irreversível. Segundo CHEFTEL (1989), a velocidade de desnaturação depende da temperatura e duplica quando a temperatura aumenta 10 °C.

A sensibilidade das proteínas à desnaturação térmica, depende de numerosos fatores tais como a natureza e concentração da proteína, a atividade de água, pH, força iônica e natureza dos íons presentes.

Como a desnaturação afeta a solubilidade devido à alteração das propriedades funcionais, é possível avaliar qualitativamente o grau desta desnaturação protéica provocada pela exposição ao calor. Isto foi observado por comparação das amostras secas nas temperaturas de 55 °C, 65 °C, 75 °C e com aquelas secas a 90 °C e 120 °C. Quando a amostra de levedura seca à temperatura de 120 °C foi colocada em água, mesmo aquecida à ebulição, observou-se que esta não se dissolveu completamente, formando partículas insolúveis e inchadas, precipitando com relativa rapidez, e mostrando uma alteração da cor ocre para a cor marrom escura (caramelo). Isto foi igualmente observado para a amostra seca a 90 °C. Porém as amostras de leveduras secas à 55 °C, 65 °C e 75 °C dissolveram-se na água, mantendo uma cor semelhante à original.

Acredita-se portanto que estas amostras de leveduras foram desnaturadas e, conforme CHEFTEL (1989), a desnaturação tem como efeitos:

- a) o decréscimo da solubilidade, resultante do desbloqueio de grupos hidrófobos;
- b) a alteração da capacidade de fixação de água;
- c) o aumento da viscosidade intrínseca;

- d) incapacidade à cristalização;
- e) a perda da atividade biológica, enzimática e/ou imunológica;
- f) aumento da sensibilidade ao ataque das proteases devido ao desbloqueio de laços peptídicos correspondentes aos sítios de ação específica das proteases.

O decréscimo da solubilidade é devido à aparição de grupos hidrófobos na molécula de proteína, à agregação de moléculas protéicas despregadas, assim como a um decréscimo da capacidade de absorção da água pela proteína, para o caso da amostra inativada a seco. Já para o caso de inativação a úmido (termólise) observa-se que o material apresenta uma curva de velocidade de secagem indicando um aumento da higroscopicidade como visto nas Figuras IV.8, IV.10, IV.12, IV.14 e IV.16, indicando um aumento da capacidade de absorção de água.

Admite-se portanto uma alteração química dos resíduos de aminoácidos e a formação de novas uniões covalentes intra ou intermoleculares. Estas modificações podem alterar as propriedades nutricionais e funcionais das proteínas nas leveduras.

Em parte, a presença de proteína desnaturada, num alimento destinado ao consumo animal, não é totalmente ruim porque as cadeias de aminoácidos se apresentam quebradas, podendo facilitar a digestão. Por outro lado, um nível de insolubilidade alto não é aceitável, principalmente se houver a necessidade de hidratação, pois tornaria o produto comercialmente inviável.

Realizaram-se análises de absorbância com as amostras secas a 55 °C por 6 horas e a 120 °C por 90 minutos, considerados tempos amplamente suficientes para garantir a inativação das leveduras. Também se testou amostras comerciais originais de forma a se poder avaliar o efeito térmico sobre a solubilidade das leveduras. Os valores obtidos para a absorbância das amostras de leveduras diluídas a 1 % em peso e filtradas em papel de filtro comum foram de 0,013, 0,037 e 0,113, para a amostra usada como matéria prima, e amostras secas a 55 °C e a 120 °C, respectivamente. O comprimento de onda utilizado foi de 660 nm, conforme OLIVEIRA (1995). Observa-se uma maior absorbância para a amostra que secou à maior temperatura (120 °C), resultado da maior absorção de luz por parte do líquido filtrado de cor amarelado (caramelo), cor esta diferente da levedura original diluída que é quase transparente. O resíduo que permaneceu no filtro foi seco em estufa a 105°C até peso constante e o peso resultante para as amostras de leveduras original, seca a 55 °C e 120 °C foi de 0,582, 0,594 e 0,639, respectivamente, indicando que houve maior retenção de massa pelo filtro para a amostra a 120 °C.

A análise de carboidratos totais e de gordura bruta para as amostras secas nas temperaturas extremas, estão indicadas na Tabela IV.8.

Tabela IV.8 - Composição de carboidratos totais e gordura bruta, para as temperaturas extremas.

Amostra	Carboidratos Totais (%)	Gordura Bruta (%)
original	12.14	0.06
seca a 55°C (6h)	11.27	-
seca a 120°C (90min)	10.08	0.27

Através da análise da Tabela acima é possível observar que houve uma queda de teor de carboidratos totais nas amostras por ocasião da secagem. Isto se deve provavelmente ao fato da ocorrência de caramelização provocada pelo tratamento térmico ou ainda pelo consumo endógeno, no início da secagem, das reservas de carboidratos pelas leveduras, as quais começam a atacar a outros constituintes celulares vitais, resultando no processo já discutido da autólise. Já para o caso de gordura bruta, ocorreu um aumento desta para a temperatura de 120 °C. Não nos foi possível encontrar uma justificativa para tal fato.

IV.5 Levantamento das Isotermas de Equilíbrio

O levantamento das isotermas de sorção foi realizado, tendo em vista que, na obtenção de produtos com baixa atividade de água (a_w), o estado da umidade presente é importante tanto para o processamento quanto para a estabilidade, e também para

a determinação do valor da monocamada de água ligada ao produto.

Os resultados experimentais obtidos do conteúdo de umidade de equilíbrio de adsorção à 25 °C para as amostras de leveduras original e umidificada seca, bem como a umidade inicial X_{bsi} (g H₂O/g sólido seco) de cada amostra são apresentados na Tabela IV.5. As isotermas de adsorção foram obtidas para a levedura original e com esta umidificada ($X_0 = 75\%$ b.u.) e seca por 180 minutos nas temperaturas de 55 °C, 65 °C, 75 °C e 120 °C. A isoterma de dessorção foi obtida com leveduras umidificadas nas condições anteriores à secagem. Os valores do conteúdo de umidade de equilíbrio são valores médios obtidos a partir das amostras em duplicata para cada atividade de água.

Pelos resultados da Tabela IV.9 observa-se que todos os valores de conteúdo de umidade de equilíbrio para a umidade relativa de equilíbrio de 23 %, correspondente ao dessecador com a solução de acetato de potássio, foram superiores aos valores de conteúdo de umidade em equilíbrio com o cloreto de magnésio (UR = 33 %). Este resultado contradiz as leis termodinâmicas pois a umidade relativa de equilíbrio do acetato de potássio é inferior à umidade relativa de equilíbrio do cloreto de magnésio.

Tabela IV.9 - Valores do teor de umidade de equilíbrio a cada a_w para as isotermas de adsorção à 25°C.

a_w	teor de umidade (g água/g ss)				
	adsorção				
	levedura original	55°C	65°C	75°C	120°C
0,08	-	-	-	-	0,0265
0,22	0,1204	0,1856	0,1321	0,1149	0,1084
0,33	0,0828	0,1376	0,0833	0,0562	0,0579
0,43	0,1011	0,1595	0,1060	0,0796	0,1126
0,53	0,1215	0,1894	0,1349	0,1350	0,1067
0,65	0,1591	0,2367	0,1808	0,1617	0,1506
0,75	0,2226	0,2997	0,2459	0,2245	0,2146
0,80	0,2671	0,3521	0,2945	0,2896	0,2635
0,85	0,3043	0,3686	0,3424	0,3299	0,2994
0,97	0,5292	0,5963	0,5562	0,5819	0,6095
X_{bsi}	0,1027	0,1353	0,0706	0,0371	0,0242

Ao que parece, a umidade relativa formada no dessecador com a solução saturada de acetato de potássio não deve ter correspondido ao valor de umidade relativa apresentado pela literatura, mesmo estando completamente saturada com excesso de sal precipitado no fundo do recipiente. Isto deixa dúvidas sobre a validade dos resultados correspondente ao ponto do acetato de potássio, uma vez que os valores de umidade de equilíbrio para o cloreto de magnésio estão coerentes com os

demaís. Discordância semelhante já foi encontrada por OGIHARA (1989).

Da Tabela IV.9 pode-se observar que, exceto para $a_w = 0,97$, os valores de conteúdo de umidade para as amostras de leveduras secas por 180 minutos a diferentes temperaturas apresentam um decréscimo à medida que a temperatura de secagem aumenta. Comparando-se os valores de conteúdo de umidade da levedura original com as leveduras que sofreram o processo de secagem, percebe-se que estes são menores, e como os valores de teor de umidade inicial (X_{bsi}), para todos os casos, diferem da levedura original, pois foram umidificadas antes da secagem, isto explica a menor adsorção de água na levedura original. No caso do ponto correspondente à $a_w = 0,97$, pelo fato de ser uma umidade relativa extremamente alta, pode estar ocorrendo mudanças bioquímicas ou mesmo alterações estruturais não visíveis nas amostras.

A fim de se descrever os dados experimentais de equilíbrio ar-umidade a 25 °C, foi selecionado o modelo de GAB (Guggenheim - Anderson - de Boer) de três parâmetros, dado pela equação (II.8). Para realizar o ajuste do modelo de GAB utilizou-se uma regressão não-linear, obtendo-se assim os valores dos parâmetros X_m , C e k .

O ajuste do modelo aos pontos experimentais produziu melhores resultados ao se excluir o ponto correspondente à solução de acetato de potássio, isto para todos os casos analisados.

As Figuras IV.21 a IV.25 mostram os ajustes das isotermas de adsorção pelo modelo de GAB, considerando-se a inserção e exclusão do ponto relativo à $a_w = 0,23$ (acetato de potássio) para a levedura original e seca nas temperaturas de secagem de 55 °C, 65 °C, 75 °C e 120 °C. Pode-se perceber que o ajuste das curvas melhora consideravelmente ao desconsiderarmos o ponto citado.

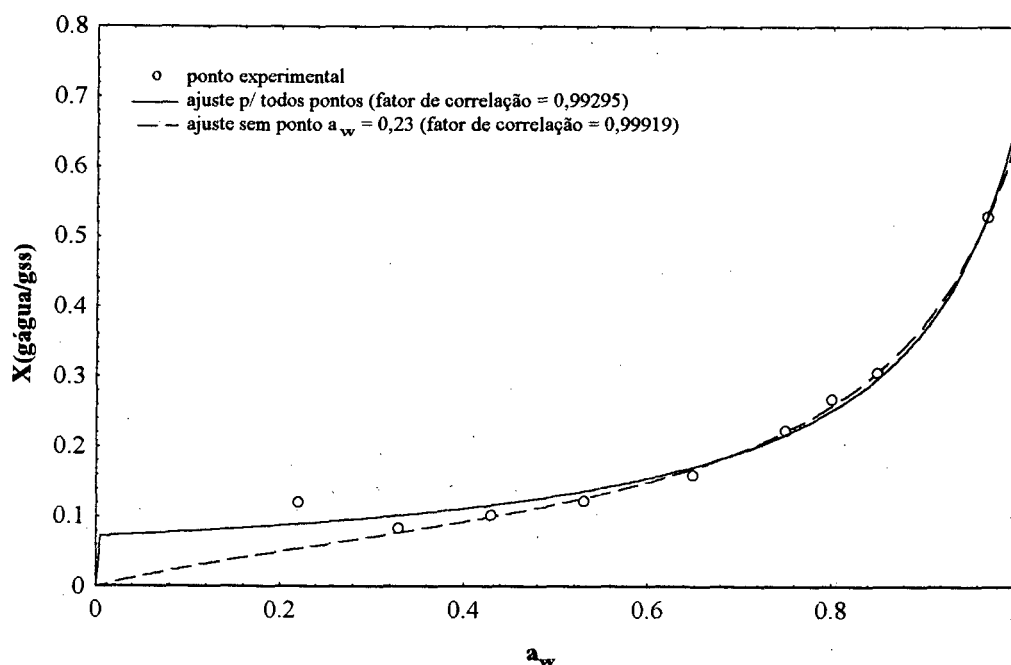


Figura IV.21 - Isoterma de adsorção à 25°C ajustada por GAB para levedura original comercial.

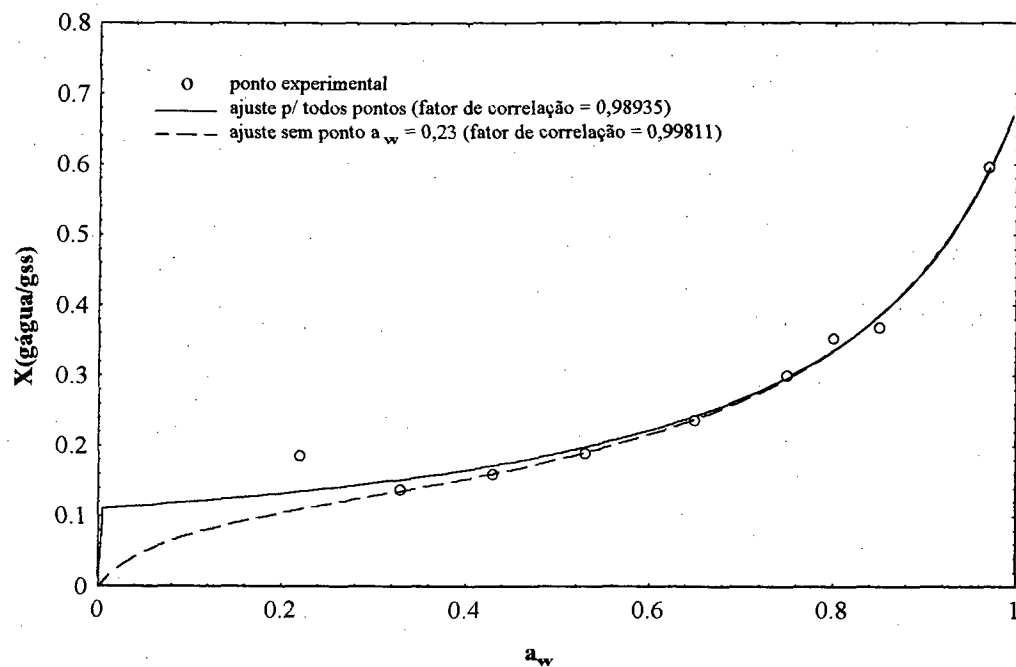


Figura IV.22 - Isoterma de adsorção à 25°C ajustada por GAB
para levedura seca à 55°C por 180 minutos.

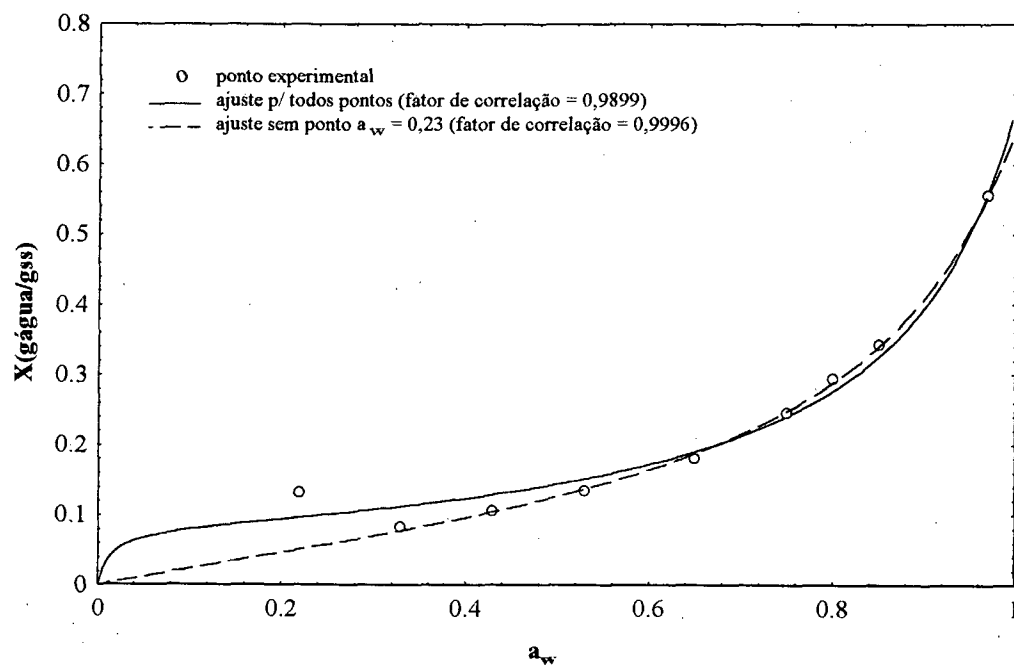


Figura IV.23 - Isoterma de adsorção à 25°C ajustada por GAB
para levedura seca à 65°C por 180 minutos.

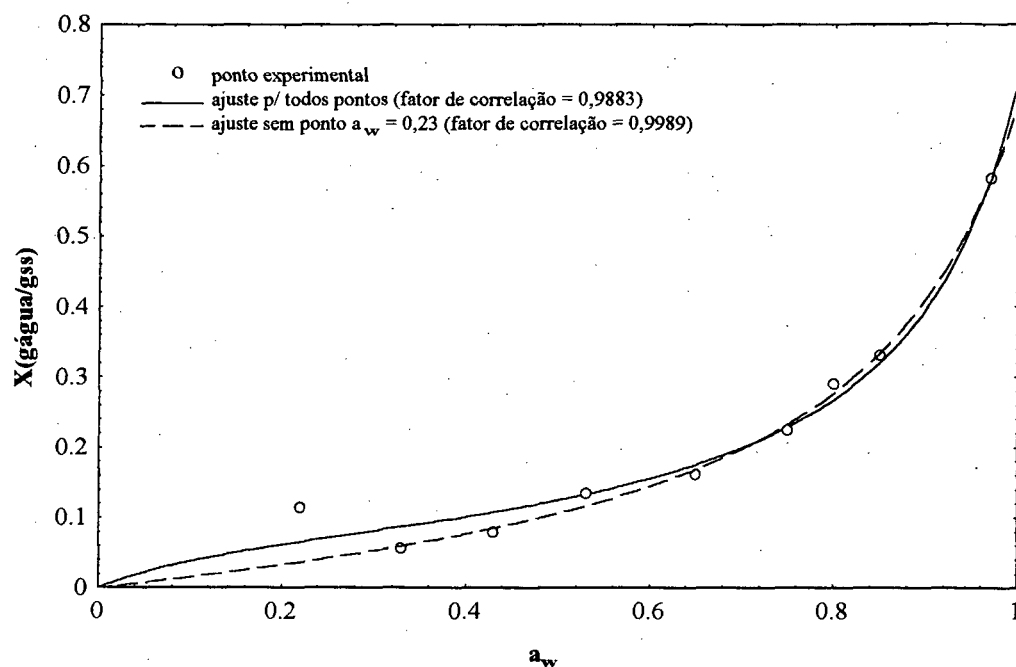


Figura IV.24 - Isotherma de adsorção à 25°C ajustada por GAB para levedura seca à 75°C por 180 minutos.

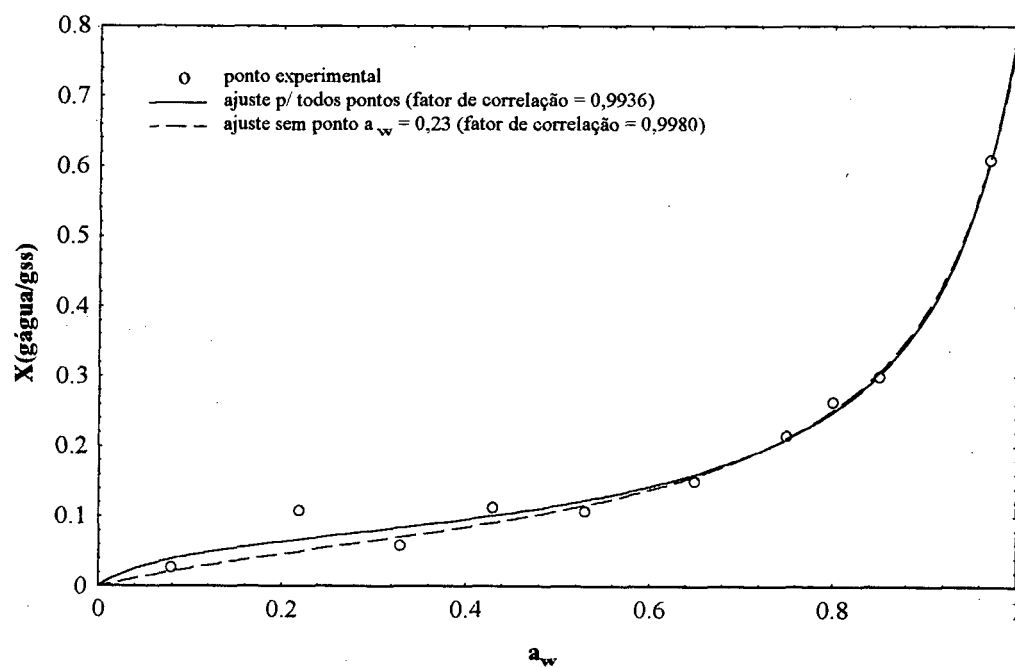


Figura IV.25 - Isotherma de adsorção à 25°C ajustada por GAB para levedura seca à 120°C por 180 minutos.

Os coeficientes da equação de GAB (X_m , k , C) ajustados para as curvas anteriores são mostrados na Tabela IV.10. Conforme observa-se, o valor da coeficiente de Guggenheim, C , decresce consideravelmente com a eliminação do ponto correspondente ao acetato de potássio em todos os casos, enquanto que o valor da monocamada, X_m , e o fator de correção, k , tiveram uma pequena alteração.

A partir da Tabela IV.10 pode-se observar que a temperatura de secagem afeta o valor da monocamada. A 120 °C, X_m é menor que para as demais temperaturas indicando que um maior fornecimento de energia ao processo faz com que o teor de água residual seja menor, reduzindo assim a atividade de água, e podendo ainda significar a ocorrência de transformações químicas no produto.

No que diz respeito ao fator de correção, k , ele aumenta gradativamente com a temperatura, pois o modelo está promovendo uma correção das propriedades das moléculas das multicamadas com relação ao volume de líquido presente.

Já o coeficiente de Guggenheim, C , possui um comportamento não linear com a temperatura, apresentando um valor decrescente de 55 °C a 75 °C, e aumentando novamente a 120 °C. Esta mudança de comportamento pode ser devido à incertezas experimentais, principalmente nas atividades de água acima de 0,75.

A isoterma de adsorção resultante dos pontos experimentais é representativa do Tipo III, conforme SALWIN

Tabela IV.10 - Coeficientes da equação de GAB ajustados para as isotermas de adsorção de leveduras secas a diferentes temperaturas, levando em consideração a inserção e exclusão do ponto correspondente a $a_w = 0,23$.

T (°C)	$a_w = 0,23$	X_m	k	C
levedura	sim	0,0720	0,8916	1343890
original	não	0,0861	0,8701	4,4216
55	sim	0,1106	0,8388	2439265
	não	0,1151	0,8343	15,895
65	sim	0,0823	0,8805	81,801
	não	0,1124	0,8395	2,633
75	sim	0,0809	0,8914	7,839
	não	0,1153	0,8511	1,543
120	sim	0,0681	0,9169	15,029
	não	0,0741	0,9090	4,794

(1963), sendo típica para materiais com altos conteúdos de açúcares e constituintes de alto peso molecular como proteínas.

O produto em estudo é altamente higroscópico e altos valores de conteúdo de umidade são resultado de um maior teor de açúcares redutores e totais.

A Figura IV.26 apresenta uma comparação com todas as isotermas de adsorção obtidas à 25 °C.

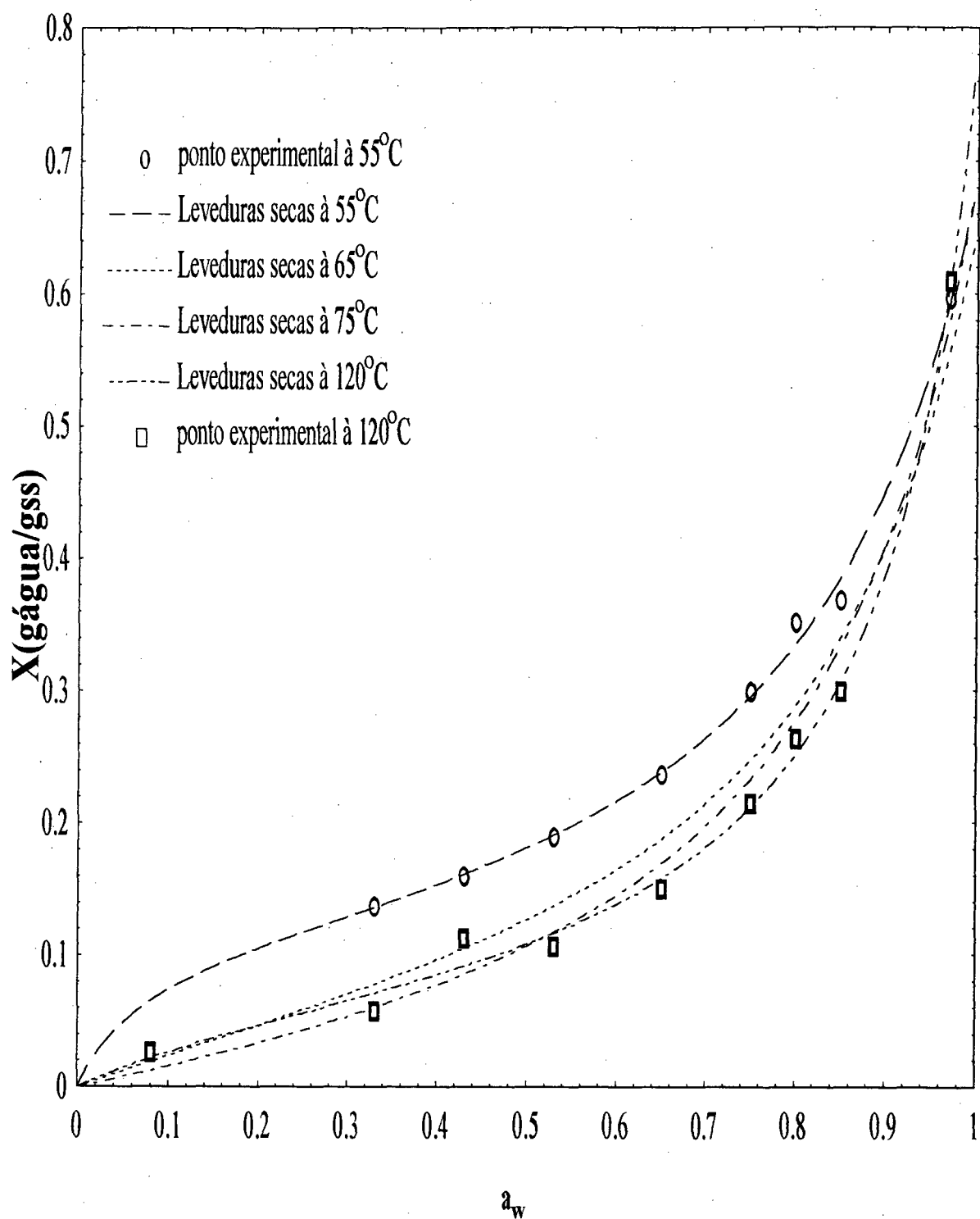


Figura IV.26 - Comparação entre isotermas de adsorção à 25°C ajustada por GAB para as temperaturas de 55°C, 65°C, 75°C e 120°C, excluindo o ponto correspondente à $a_w = 0,23$.

Percebe-se pelas curvas de adsorção para as amostras de levedura original umidificada submetidas ao tratamento térmico que a higroscopicidade diminui à medida que a temperatura de secagem aumenta. Nota-se também que a operação de secagem da levedura original umidificada ($X_0 = 75\%$) promoveu um aumento na capacidade de retenção de umidade das leveduras, mais sensível à menores temperaturas. A isoterma de adsorção para a levedura seca na temperatura de $75\text{ }^{\circ}\text{C}$ mostra que houve menor adsorção de água do que na isoterma correspondente à $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a atividade de 0,53, depois apresenta uma maior retenção de umidade. Isto mostra alterações nas propriedades bioestruturais e bioquímicas pelo efeito da temperatura e velocidade de secagem.

Os valores de conteúdo de umidade de equilíbrio para a isoterma de dessorção estão apresentados na Tabela IV.11. O equilíbrio foi obtido para a faixa de atividade de água (a_w) de 0,08 a 0,65, devido à impossibilidade de alcançar o equilíbrio acima destas atividades de água, pela ocorrência de alterações nas amostras tais como, crescimento de fungos, forte odor e mudança de textura.

A partir dos resultados de dessorção para as leveduras originais umidificadas a um conteúdo de umidade inicial de $X_{bu} = 75\%$ aplicou-se o modelo de GAB para ajustar uma curva aos pontos experimentais, a qual está representada na Figura IV.27.

Tabela IV.11 - Conteúdo de umidade de equilíbrio correspondente à determinada atividade de água para isoterma de dessorção à 25°C.

a_w	conteúdo de umidade (g água/g ss)
	dessorção
0,08	0,00584
0,22	0,02473
0,33	0,03133
0,43	0,05646
0,65	0,1444

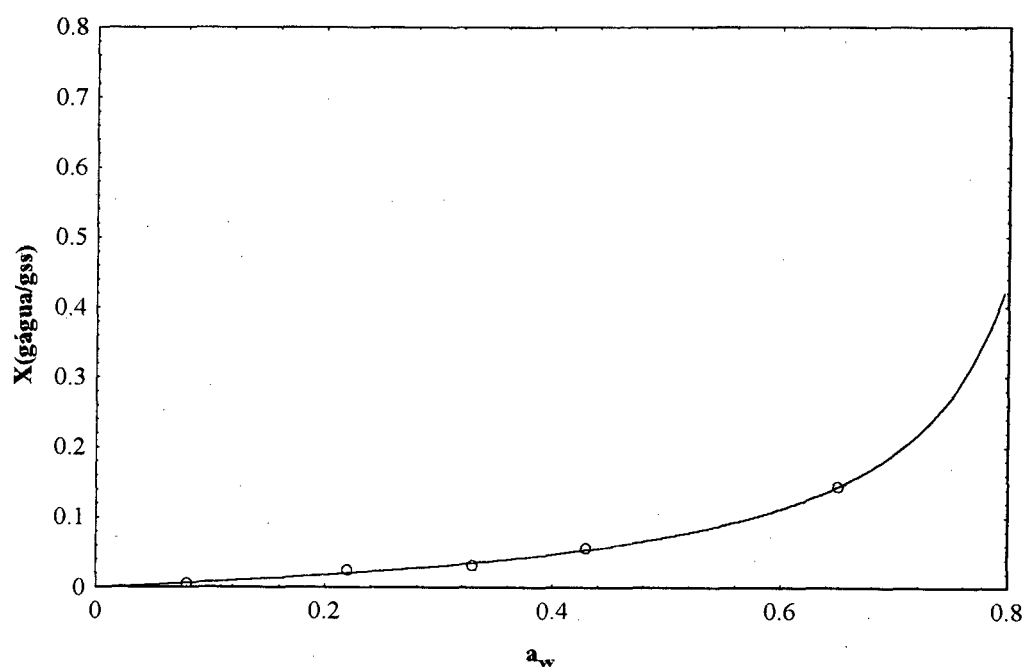


Figura IV.27 - Isoterma de dessorção à 25°C ajustada pelo modelo de GAB para levedura original umidificada.

Tabela IV.12 - Coeficientes da equação de GAB para a isoterma de dessorção de levedura original umidificada.

	X_m	k	C
todos os pontos	0,04956	1,1198	1,4357

Os valores dos coeficientes para a isoterma de dessorção segundo o modelo de GAB são mostrados na Tabela IV.12. Observa-se que estes valores são menores que os obtidos para as isotermas de adsorção.

Uma comparação entre a curva de adsorção para a levedura original comercial e a curva de dessorção para esta mesma levedura mas umidificada a $X_{bu} = 75 \%$ está indicado na Figura IV.28.

Comparando-se as curvas de adsorção e dessorção observa-se o fenômeno de histerese. Normalmente a curva de dessorção está acima da curva de adsorção o que não acontece no caso presente. Pode estar ocorrendo uma combinação de trocas estruturais (solubilização de componentes) durante a adsorção e dessorção, resultado das concentrações de açúcares presentes e de proteína. Este mesmo comportamento foi observado por MAZZA e LeMAGUER (1978), para produtos que fazem parte dos representativos de curvas do Tipo III.

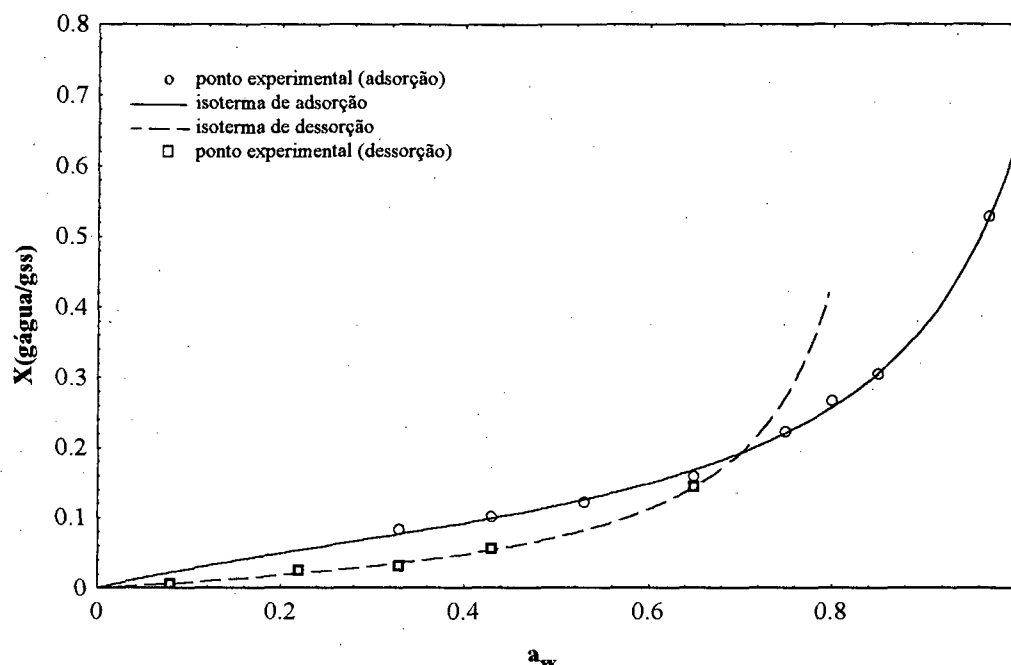


Figura IV.28 - Comparação entre isoterma de adsorção para levedura original comercial e isoterma de dessorção para levedura original comercial umidificada, a 25°C.

A realização de cálculo teórico para a obtenção de isotermas de dessorção para as temperaturas de secagem de 55 °C, 65 °C, 75 °C, 90 °C e 120 °C não apresentaram variações significativas, mostrando o mesmo comportamento para estas curvas de dessorção.

Neste capítulo procurou-se apresentar da melhor forma possível os resultados obtidos no estudo da secagem e da inativação de leveduras, fazendo-se uma discussão bem abrangente.

CAPÍTULO V

CONCLUSÕES

Procurou-se ao longo deste trabalho estudar as propriedades e o comportamento de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* quando submetidas a um processo de secagem e inativação fermentativa simultâneas. Tais leveduras constituem importante fonte de proteínas e vitaminas do complexo B, justificando assim a busca de estratégias de processamento e adequação para seu emprego na formulação de ração animal e mesmo para o consumo humano.

Durante a secagem de leveduras ativas (fermento seco comercial) em meio aquoso, e com mais intensidade para as temperaturas de ensaio de 55 °C, 65 °C e 75 °C, nesta ordem, observou-se a evolução de quantidades apreciáveis de gás carbônico, em especial na fase inicial da operação quando o teor de umidade das amostras era ainda elevado. Na ausência de nutrientes, atribuiu-se a produção de gás ao consumo endógeno das reservas de carboidratos, e posterior ataque a outros constituintes celulares vitais, resultando no fenômeno de autólise, também conhecido como auto-solubilização, das células de leveduras. Sabe-se que com a elevação da temperatura desencadeia-se a ativação de enzimas (notadamente as proteases)

responsáveis pela digestão de compostos de alto peso molecular das paredes das células. A autólise é um fenômeno que ocorre naturalmente nos processos fermentativos se as leveduras permanecem em contato com o fermentado após o processo ter-se completado. Os produtos liberados durante a autólise incluem álcool e CO_2 , produtos de degradação protéica como peptídeos e aminoácidos, vitaminas, componentes do ácido nucléico tais como adenina, guanina, ergosterol, lipídeos e numerosas enzimas.

Com o fim de avaliar a influência da autólise no processo de secagem, utilizaram-se amostras de levedura previamente termolisadas. A comparação entre as curvas de secagem obtidas com leveduras termolisadas e não termolisadas mostrou que, em igualdade de condições, estas últimas perdem mais massa (na ordem de 20 %). Parte desta diferença é atribuída à liberação de CO_2 durante a secagem. De outra parte, constatou-se que, para as leveduras termolisadas, o produto final de secagem apresenta uma textura mais fina e higroscópica. Já para as leveduras não termolisadas observou-se a formação de uma estrutura aberta e porosa, responsável pelo comportamento menos higroscópico do produto na fase final de secagem.

Conjuntamente aos ensaios de secagem com inativação, buscou-se associar a evolução da atividade fermentativa das leveduras, determinada sucessivas vezes ao longo do processo. Como resultado, verificou-se uma cinética complexa de inativação com o aparecimento de picos de atividade

fermentativa durante a secagem. Alguns destes picos coincidiram exatamente com as inflexões constatadas nas curvas de velocidade de secagem, sugerindo mudanças de mecanismo no transporte de massa, possivelmente relacionadas com alterações bioestruturais. Como tendência observou-se que um aumento da atividade fermentativa alterou a cinética de secagem tornando o processo de perda de massa menos acelerado. Por outro lado, este comportamento não se verificou para as temperaturas mais elevadas (90 °C e 120 °C), ocorrendo um decréscimo rápido e monotônico do poder fermentativo já na fase inicial da secagem.

O levantamento de isotermas de sorção mostrou que a higroscopicidade das leveduras secas diminui à medida que a temperatura de secagem aumenta. Notou-se também que a operação de secagem do produto original comercial a partir de 75 % (base úmida) promoveu um aumento geral na capacidade de retenção de umidade das leveduras, tanto mais sensível quanto mais amena a temperatura empregada. Isto atesta a importância dos efeitos da temperatura, da velocidade de secagem e da autólise na alteração das propriedades bioestruturais e bioquímicas das amostras.

O estudo possibilitou ainda concluir que o processo de secagem de leveduras com inativação simultânea, não deve ser conduzido em temperaturas muito elevadas (acima de 75 °C). Apesar de não se constatar alterações significativas no valor nutritivo do produto, isto para tempos de processamento não excessivamente longos, verificam-se alterações indesejáveis no

aspecto, odor e estrutura do mesmo, com decréscimo de solubilidade e de capacidade de reidratação. Fica evidente que essas alterações podem vir a comprometer a viabilidade comercial do produto.

É necessário frisar o fato de que o presente estudo empregou uma levedura comercial, cujas condições exatas de produção não são conhecidas. Seria então oportuno realizar, na sequência do trabalho, ensaios experimentais envolvendo leveduras produzidas sob condições controladas e empregando como substrato fermentativo resíduos de agro-indústrias. Isto integraria os objetivos de aproveitamento de resíduos potencialmente poluentes e o de utilização das leveduras como complemento alimentar. Saliencia-se igualmente a necessidade de se realizar uma etapa de testes com equipamentos pilotos, tais como secador tambor com ou sem recheio de inertes, secador em leito fluidizado ou mesmo secador spray. Definido o tipo de secador, se buscariam as condições ótimas de processamento.

Para futuros trabalhos, indica-se igualmente a necessidade de aprofundar o estudo aqui suscitado e utilizar os resultados obtidos na definição de métodos e condutas devidamente adaptadas ao aproveitamento industrial de leveduras alimentares. Em especial se recomenda o desenvolvimento de modelos matemáticos aptos a descrever e elucidar os mecanismos de secagem e de alteração de propriedades biofísicas e bioquímicas das leveduras.

APÊNDICE I

Uma Aproximação Geométrica para Diferenciação de uma Função Experimental em um Ponto.

Para o desenvolvimento deste método assume-se que existe um arco de círculo $y(x)$ passando por três pontos $A(x_A, y_A)$, $B(x_B, y_B)$ e $C(x_C, y_C)$. Sob estas condições,

$$\left. \frac{dy(x)}{dx} \right|_{x_B} = \text{inclinação da tangente à B} \quad (1)$$

As equações para as linhas retas AB e BC são

AB :

$$y = m_{AB}x + n_{AB} \quad (2)$$

com a inclinação,

$$m_{AB} = \frac{y_B - y_A}{x_B - x_A} \quad (3)$$

e a intersecção,

$$n_{AB} = \frac{y_A x_B - y_B x_A}{x_B - x_A} \quad (4)$$

BC :

$$y = m_{BC}x + n_{BC} \quad (5)$$

com a inclinação,

$$m_{BC} = \frac{y_C - y_B}{x_C - x_B} \quad (6)$$

e a intersecção,

$$n_{BC} = \frac{y_B x_C - y_C x_B}{x_C - x_B} \quad (7)$$

Sejam $M(x_M, y_M)$ e $N(x_N, y_N)$ os pontos médios de AB e BC respectivamente, as linhas retas MO e NO devem ser traçadas perpendiculares respectivamente com AB e BC em seus pontos médios. As equações para MO e NO são:

MO :

$$y = m_{MO}x + n_{MO} \quad (8)$$

com a inclinação,

$$m_{MO} = \frac{1}{m_{AB}} = \frac{x_A - x_B}{y_B - y_A} \quad (9)$$

e a intersecção,

$$n_{MO} = y_M - m_{MO}x_M$$

$$m_{MO} = \left[\frac{y_A + y_B}{2} \right] - m_{MO} \left[\frac{x_A + x_B}{2} \right] \quad (10)$$

NO :

$$Y = m_{NO}x + n_{NO} \quad (11)$$

com a inclinação,

$$m_{NO} = -\frac{1}{m_{BC}} = \frac{x_B - x_C}{y_C - y_B} \quad (12)$$

e a intersecção,

$$n_{NO} = y_N - m_{NO}x_N$$

$$n_{NO} = \left[\frac{y_B + y_C}{2} \right] - m_{NO} \left[\frac{x_B + x_C}{2} \right] \quad (13)$$

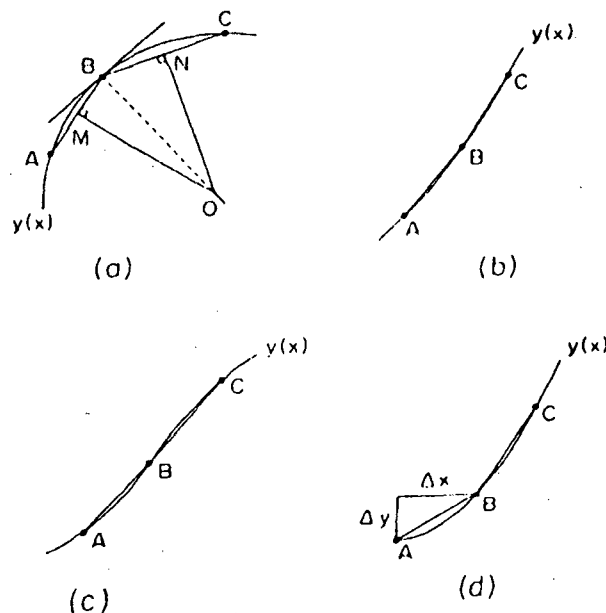


Fig.1. Ilustração para o método de diferenciação geométrica no ponto B : (a) caso geral; (b) em uma linha reta; (c) em um ponto de inflexão; (d) começando no ponto A .

As coordenadas da intersecção destas duas linhas perpendiculares no ponto $O(x_O, y_O)$ são determinadas pelas equações (8) e (11), e consequentemente,

$$x_O = \frac{n_{NO} - n_{MO}}{m_{MO} - m_{NO}} \quad (14)$$

$$y_O = m_{MO}x_O + n_{MO} = m_{NO}x_O + n_{NO} \quad (15)$$

A equação da linha reta OB é

$$y = m_{OB}x + n_{OB} \quad (16)$$

a qual tem uma inclinação correspondente à

$$m_{OB} = \frac{y_B - y_O}{x_B - x_O} \quad (17)$$

e finalmente, a inclinação da tangente de $y(x)$ ao ponto B é,

$$\left. \frac{dy(x)}{dx} \right|_{x_B} = -\frac{1}{m_{OB}} = \frac{x_O - x_B}{y_B - y_O} \quad (18)$$

Os casos particulares para serem considerados são os seguintes: a) Se as inclinações de AB e BC são aproximadamente iguais (Fig. 1b) onde $m_{AB} \cong m_{BC}$, a aproximação usada é,

$$\left. \frac{dy(x)}{dx} \right|_{x_B} \cong \frac{m_{AB} + m_{BC}}{2} \quad (19)$$

b) Se B é o ponto de inflexão (Fig. 1c), a aproximação pela equação (19) pode também ser usada. c) Para o caso de ponto de partida ou ponto final (Fig. 1d), a derivada pode ser aproximada por:

$$\left. \frac{dy(x)}{dx} \right|_{x_A} \cong \frac{\Delta_y}{\Delta_x} \quad (20)$$

O cálculo das equações (18), (19) e (20) para um conjunto de ponto experimentais (x_i, y_i) pode ser facilmente implementado em computador.

Este método foi desenvolvido por LeDUY e ZAJIC (1973).

APÊNDICE II

Equações para o cálculo da umidade absoluta e umidade relativa do ar de secagem.

a) Umidade absoluta (UA)

$$UA = \frac{m_{\text{vapor d'água}}}{m_{\text{ar seco}}} \quad (1)$$

sendo $m_{\text{vapor d'água}}$ a massa de vapor da água

$m_{\text{ar seco}}$ a massa do ar seco

mas

$$P = P_{O_2} + P_{N_2} + P_v \quad (2)$$

onde

P = pressão barométrica local

P_{O_2} = pressão parcial do oxigênio

P_{N_2} = pressão parcial do vapor d'água

P_v = pressão de vapor

Considerando-se: $P_{O_2} + P_{N_2} = P_{\text{ar seco}}$ tem-se

$$P = P_{ar\ seco} + P_v \quad (3)$$

Pela lei dos gases perfeitos, pode-se dizer que:

$$P_{ar\ seco} \cdot V_{ar\ seco} = R_{ar\ seco} \cdot T_{abs} \quad (4)$$

onde

$V_{ar\ seco}$ = volume específico do ar seco, definido como sendo o volume ocupado pela mistura por unidade de massa do ar seco.

T_{abs} = temperatura absoluta da mistura

R_a = constante dos gases para o ar seco, ou seja

$$R_{ar\ seco} = \frac{R}{M_{ar\ seco}} = \frac{8314}{28,966} = 287 \frac{J}{kg \cdot K}$$

e do mesmo modo tem-se:

$$P_v \cdot V_v = R_v \cdot T_{abs} \quad (5)$$

onde

R = constante universal dos gases

V_v = volume específico do vapor d'água, definido como sendo o volume ocupado pela mistura por unidade de massa do vapor d'água.

R_v = constante dos gases para o vapor d'água, ou seja

$$R_v = \frac{R}{M_{H_2O}} = \frac{8314}{18} = 462 \frac{J}{kg \cdot K}$$

dividindo-se as equações (4) e (5), tem-se

$$\left(\frac{P_{ar\ seco}}{P_v} \right) \cdot \left(\frac{\text{unidade de massa de vapor d'agua}}{\text{unidade de massa de ar seco}} \right) = 0,622$$

ou seja

$$\left(\frac{P_{ar\ seco}}{P_v} \right) \cdot UA = 0,622 \quad (6)$$

Combinando-se (6) e (3), tem-se

$$UA = 0,622 \left(\frac{P_v}{P - P_v} \right) \quad (7)$$

Para o cálculo de P_v , tem-se

$$P_v = P_{vu} - \frac{h' \cdot (T_{bs} - T_{bu}) \cdot R \cdot (T_{bs} + 273,14)}{h'_D \cdot M_{H_2O} \cdot h_{fg}} \quad (8)$$

onde

R é a constante universal dos gases = 8314 J/kgmol K

T_{bs} e T_{bu} a temperatura de bulbo seco e bulbo úmido

h' o coeficiente de troca térmica entre o ar-água

h'_D coeficiente de transferência de massa entre ar-água

h_{fg} calor latente de vaporização por kg de água evaporada

M_{H_2O} a massa molecular da água = 18 kg/kgmol

sendo:

$$\frac{h'}{h_D} = \rho_{ar} \cdot C_{ar} \cdot \left(\frac{S_c}{P_r} \right)^{2/3}$$

ρ_{ar} é a densidade do ar = 0,998 kg/m³

C_{ar} o calor específico do ar seco = 1007 J/kg °C

S_c o número de Schmidt = 0,60 para o sistema ar-água

P_r é o número de Prandtl = $\frac{C_{ar} \cdot \mu_{ar}}{K_{ar}} = 0,69$

μ_{ar} a viscosidade do ar = 2,117.10⁻⁵ N/m²

K a condutividade térmica do ar = 3,078.10⁻² W/m K

Tomando-se as propriedades do ar, na temperatura mais próxima possível da T_{bs} , que for utilizado nos experimentos, ou seja, $T_{bs} \approx 50$ a 120°C resultou o valor médio de 85°C. Assim, tem-se:

$$\frac{h'}{h_D} \cong 915,54 \text{ J/m}^3 \text{ } ^\circ\text{C}$$

mas

$$h_{fg} = 2,5 \cdot 10^6 - 2,39 \cdot 10^3 \cdot T_{orvalho} \quad \text{p/} \quad 0 \leq T_{orv} \leq 65^\circ\text{C}$$

Como a $T_{orvalho}$ será de $\cong 34^{\circ}\text{C}$ para os experimentos (média das T_{bu}), logo $h_{fg} = 2418740 \text{ J/kg}$.

Com isso, a equação (8) torna-se:

$$P_v = P_{vu} - 0,175(T_{bs} - T_{bu}) \cdot (T_{bs} + 273,15) \quad (9)$$

sendo que P_{vu} = pressão de vapor de saturação na T_{bu} . Se P_{vs} (pressão do vapor de saturação) for dado por:

$$P_{vs} = \exp \left[a - \frac{b}{T - 273,15} - c \cdot \ln(T + 273,15) \right] \quad (10)$$

onde $a = 60,43$

$b = 6834,27$

$c = 5,17$

Portanto, para $0^{\circ}\text{C} \leq T_{bu} \leq 90^{\circ}\text{C}$, P_{vu} é dado por:

$$P_{vu} = \exp \left[60,43 - \frac{6834,27}{T_{bu} + 273,15} - 5,17 \cdot \ln(T_{bu} + 273,15) \right] \quad (11)$$

com P_{vu} em Pascal

P_v em Pascal

T_{bs} e T_{bu} em $^{\circ}\text{C}$

Na equação (7) tem-se:

P em Pascal (pressão barométrica na tomada da amostragem)

$P_{atm} = 101325$ Pascal

então $P = (P_{atm} + P_{manométrica}$ na tomada da amostragem no interior da célula)

Obs.: Para as condições de operação utilizada $P \cong P_{atm}$ pois $P_{manométrica}$ é muito pequena.

b) Umidade Relativa (UR)

Tendo-se UA e T_{bs} no ponto da amostragem, obtém-se

$$UR = \frac{P_v}{P_{vs}} \quad (12)$$

onde

P_{vs} é a pressão de vapor de saturação na T_{bs} , dada por:

$$P_v = \exp \left[60,43 - \frac{6834,27}{T_{bs} + 273,15} - 5,17 \cdot \ln(T_{bs} + 273,15) \right] \quad (13)$$

e da equação (7) resulta:

$$P_v = \frac{UA \cdot P}{0,622 + UA} \quad (14)$$

logo

$$UR = \frac{UA \cdot P \cdot 100}{(0,622 + UA) \cdot P_{vs}} \quad (15)$$

As equações (11) e (13) foram adaptadas a partir da equação (10) para calcular as propriedades psicrométricas diretamente, sem o uso da carta psicrométrica. As quais foram gentilmente sugeridas pelo professor Adelamar Ferreira Novais através de comunicação pessoal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A.O.A.C. Official Methods of Analysis of the Association of
Official Agricultural Chemists. Washington, D.C., ed. 12,
1984.

BIZOT, H. Using the G.A.B. model to construct sorption
isotherms. **Physical Properties of Foods.** p. 43-54, 1985.

BRESSANI, R. The use of yeast in human foods. In: MATELES, R.
I.; TANNENBAUM, S. R. **Single-cell protein.** Cambridge : THE
M. I. T. PRESS, 1968. p. 90-121.

BRUNAUER, S.; EMMETT, P. H.; TELLER, E. Adsorption of gases in
multimolecular layers. **Journal Am. Chem. Society.** v. 60, p.
309-319, feb., 1938.

BURJAILI, M. M.; FINZER, J. R. D.; LIMAVERDE, J. R.;
KIECKBUSCH, T. G. Capacidade e consumo energético na secagem
de materiais pastosos: Um estudo comparativo. Encontro sobre
escoamento em meios porosos (XXII. :1994 : Maringá). **Anais.**
Maringá, Paraná, 1994.

CHEFTEL, J. C. et alii. **Introduction à la Biochimie et à la Technologie des Aliments.** v. 1-2. : Technique et Documentation, 1977.

CHEFTEL, J. C.; CUQ, J. L.; LORIENT, D. **Proteínas Alimentares.** Bioquímica, Propriedades funcionales, Valor Nutritivo, Modificações químicas. España : Editorial ACRIBIA S.A., 1989.

CHEN, S. L.; CHIGER, M.. **Food and Beverage Products.** Production of Baker's Yeast. Comprehensive Biotechnology, v. 3, Moo Young Ed., Pergamon Press, 1986.

DZIEZAK, J.D. Yeasts and yeast derivatives: applications. **Food Technology**, v. 41, n. 2, p. 122-125, 1987.

FALANGHE, H. Produção de microrganismos. In: LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Tecnologia das Fermentações.** São Paulo : ed. Edgard Blücher Ltda, 1975. v. 1, p. 247-285.

IMRIE, F. Single-cell protein from agricultural wastes. **New Scientist**, v. 22, p. 458-460, may., London, 1975.

JARDIM, D.C.P. Medidas de atividade de água. In: Seminário sobre atividade de água em alimentos, 1, Campinas, 1987. **Resumos**, Campinas, ITAL, 1987.

JOSIC, D. Optimization of process conditions for the production of active dry yeast. **Lebensm.-Wiss. und Technol.**, v. 15, n. 1, p. 5-14, 1982.

KEEY, R. B. **Drying - Principles and Practice**. New York : Pergamon Press, 1975.

KIHLBERG, R. The microbe as source of food. **Ann. Rev. Microbiol.**, v. 26, p. 427-466, 1972.

KINSELLA, J. E. Functional proteins from yeast nucleoprotein for foods uses: methods for isolation. p. 363-391, 1987.

LABUZA, T.P. Sorption phenomena in foods. **Food technology**, v.22, p. 15-24, mar., 1968.

LABUZA, T. P.; Barrera Santos, D. Concentration and drying of Yeast for Human food : effect of evaporation and drying on cell viability and SCP quality. **Transactions of the ASAE**, p. 701-705, 1971.

LABUZA, T. P. et alii. The effect of water activity on the heat resistance of vegetative cells in the intermediate moisture range. **Lebensm.-Wiss. und Technol.**, v. 8, n. 2, p. 78-81, 1975.

LABUZA, T.P. Standard procedure for isotherm determination.

Cereal Foods World, v. 28, n. 4, p. 258, apr., 1983.

LeDUY, A.; ZAJIC, J.E. A geometrical approach for
differentiation of an experimental function at a point :
applied to growth and product formation. **Biotechnology and
Bioengineering**, v. 15, p. 805-810, 1973.

LOMAURO, C. J.; BAKSHI, A. S.; LABUZA, T. P. Evaluation of
food moisture sorption isotherm equations. Part I and II.
Lebensm.-Wiss. und Technol., v. 18, n. 2, p. 111-117, 1985.

MAZZA, G.; LeMAGUER, M. Water sorption properties of yellow
globe onion. **J. Inst. Can. Sci. Technol. Aliment.** vol. 11,
n. 4, oct., 1978.

MCCABE, W. L.; SMITH, J. C. **Unit Operations of Chemical
Engineering**. McGraw-Hill Book Company, INC, 1956.

NINOW, J. L., Emmendoerfer, C. M., Oliveira, D. Utilização de
Resíduos Amiláceos para a produção de Proteínas unicelulares.
Dosagem em linha de metabólitos voláteis. Encontro sobre
escoamento em meios porosos (XXII. :1994 : Maringá). **Anais.**
Maringá, Paraná, 1994.

NONHEBEL, G.; MOSS, A. A. H. **Drying of solids in the Chemical Industry.** London : Butterworths, 1971.

Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos, v. 1, 1985.

NOVAIS, A. F. **Comunicação pessoal.**

NOVOA, M. A. O.; PALACIOS, C. A. M.; LEÓN, E. R. **Manual de Técnicas para Laboratório de Nutrition de Peces y Crustáceos.** FAO. México, 1993.

OGIHARA, L. A. **Determinação dos parâmetros de Secagem de milho verde e ensaios de armazenamento.** Campinas, 1989.
Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) -
Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade
Estadual de Campinas.

OLIVEIRA, D. **Uso de um sensor de compostos voláteis para o controle de uma fermentação batelada alimentada de *Saccharomyces cerevisiae*.** Florianópolis, 1995. Dissertação
(Mestrado em Engenharia Química) - Departamento de Engenharia
Química, Universidade Federal de Santa Catarina.

PELLET, P. L.; YOUNG, V. R. **Nutritional evaluation of proteins foods.** Tokio : The United Nations University, 1980.

RAO, M. A.; RIZVI, S. S. H. **Engineering Properties of Foods.** New York : Marcel Dekker, Inc., 1986.

REED, G. PEPPLER, H.J. **Yeast technology.** The AVI Publ. Co., Inc. 1973.

RHEINBOLDT, R. H. H.; LEIMER, K. H.; ROSSELL, C. E. V. Sangria e secagem de levedura - processo CTC. **Boletim Técnico COPERSUCAR**, v. 39, p. 8-12, São Paulo, SP, Brasil, 1987.

ROCKLAND, L.B. Saturated salt solutions for static control of relative humidity between 5° and 40°C. **Analytical Chemistry**, v. 32, n. 10, p. 1375-1376, sep., 1960.

ROCKLAND, L. B.; Stewart G. F. (eds): **Water Activity: Influences on Food Quality**, Academic Press, New York, 1981.

SALES, A. M.; LAJOLO, F. M; MENEZES, T. J. B.; SHIROSE, I. Aproveitamento da biomassa de mandioca fermentada na alimentação animal : Produção, Composição Química e Valor **Coletânea do ITAL**. Campinas, v. 13, p. 59-74, 1983.

STUMBO, C. R. **Thermobacteriology in food processing.** New York : Academic Press, 1973.

TAEYMANS, D.; LENGES, J. Sechage de la Biomasse. **Rev. Ferm. Ind. Alim.**, v. 39, n. 2, p. 31-44, 1984.

TEIXEIRA NETO, R. O. Levantamento e aplicação de isotermas. In: Seminário sobre atividade de água em alimentos, 1, Campinas, 1987. **Resumos**, Campinas, ITAL, 1987.

THORN, J. A. Yeast autolysis and effect on beer. **Brewer's Digest**, v. 46, n. 10, p. 110-113, 1971.

TREYBAL, R. E. **Mass-Transfer Operations.** McGraw-Hill, Inc. 1955.

VITALI, A. A. Importância da atividade de água em alimentos. In: Seminário sobre atividade de água em alimentos, 1, Campinas, 1987. **Resumos**, Campinas, ITAL, 1987.

- SALWIN, H. Moisture levels required for stability in dehydrated foods. **Food Technology**. v. 17, n. 9, p. 1114-1120, sep., 1963.
- SANTOS, V. M.; CAIXETA, A. O.; BURJAILI, M. M.; LIMAVERDE, J. R.; FINZER, J. R. D. Análise energética de secadores no processamento de levedura termolisada. Encontro sobre escoamento em meios porosos (XXI. : 1993. : Ouro Preto). **Anais**. Ouro Preto, MG, 1993.
- SCHÄR, W; RÜEGG, M. The evaluation of G.A.B. constants from water vapour sorption data. **Lebensm.-Wiss. und. Technol.**, v. 18, p. 225-229, 1985.
- SENEZ, J. C., RAIMBAULT, M.; DESCHAMPS, M. Protein enrichment of starchy substrates for animal feeds by solid-state fermentation. **World Animal Rev**, Roma, v. 35, p. 36-39, 1980.
- STRUMILLO, C.; KUDRA, T. **Drying: Principles, applications and design**. New York : Gordon and Breach Science Publishers, 1986.
- STRUMILLO, C.; ADAMIEC, J. Advances in drying of biosynthesis products. Encontro sobre escoamento em meios porosos (XIX. :1991 : Campinas). **Anais**. Campinas, São Paulo, 1991.